

Alejando el umbral del desequilibrio ambiental

Seis aportes al debate

Tony Vilorio y Efrén Vázquez (Coordinadores)

Alejando el umbral del desequilibrio ambiental

Seis aportes al debate



2021

Alejando el umbral del desequilibrio ambiental

Seis aportes al debate

©Tony Vioria y Efrén Vázquez (Coordinadores)

1ra edición:

© Universidad Politécnica Salesiana
Av. Turuhayco 3-69 y Calle Vieja
Cuenca-Ecuador
Casilla: 2074
P.B.X. (+593 7) 2050000
Fax: (+593 7) 4 088958
e-mail: rpublicas@ups.edu.ec
www.ups.edu.ec

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Diagramación:

Editorial Universitaria Abya-Yala
Quito-Ecuador

ISBN UPS:

978-9978-10-566-5

ISBN Digital:

978-9978-10-.567-2

Impresión:

Editorial Universitaria Abya-Yala
Quito-Ecuador

Tiraje:

300 ejemplares

Impreso en Quito-Ecuador, junio 2021

Publicación arbitrada de la Universidad Politécnica Salesiana



Índice

Introducción.....	7
Reutilización de aguas residuales (purines) para el crecimiento de <i>Medicago sativa</i> (alfalfa).....	13
Paola Duque Sarango, Juan Troya Iriarte, Lissette Mejía Pesantez, Miriam Mainato Tenemaza	
Radiación ionizante y sus efectos biológicos en la práctica odontológica: revisión bibliográfica.....	33
Mariela Ramírez-Velásquez, Magdalena Molina, Andrés Domínguez	
Uso de desechos orgánicos provenientes del sector bananero de la ciudad de Machala para la obtención de biocombustibles	65
Jorge Amaya P.	
Biocontrol del <i>damping-off</i> en tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) a través del hongo antagonista <i>Trichoderma harzianum</i> (rifai).....	93
Manuel Ernesto Delgado F., Jorge Ramírez Robles, Carlos Hernández, Jorge Plasencia	

Estudio de los niveles de calcio, potasio, magnesio y sodio en dos núcleos sedimentarios del lago de Maracaibo en Venezuela	113
---	-----

Julio Torres, Hilda Ledo, Keila Monsalve, Yulixis Cano,
Ligbel Sánchez, Jean Pérez

Influencia de la construcción del tranvía en las concentraciones de dióxido de nitrógeno en la ciudad de Cuenca, Ecuador	125
--	-----

Fernando Pacheco, Freddy Armijos-Arcos,
Rubén Jerves, Claudia Espinoza

Introducción

“La tercera década del siglo XXI acaba de arrancar y los desafíos ambientales que tenemos por delante, reflejados en la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), son numerosos” (Iberdrola, 2021): adaptación al cambio climático y, sobre todo, su desaceleración; la contaminación galopante de aguas y aire; el agotamiento de las fuentes de combustibles fósiles y la necesidad de desarrollar las fuentes de energía renovables; los modelos sostenibles de alimentación; la protección de la biodiversidad; desarrollo urbano y movilidad sostenible; el estrés hídrico y el agotamiento de las fuentes de agua potable; el aumento desenfrenado de la población mundial y la gestión de los desechos.

En estas poquísimas palabras se resumen los retos que la humanidad enfrenta, pero la magnificencia y complejidad de estos alcanza límites insospechados, y la interrogante es ¿estamos aún a tiempo y tenemos la capacidad para enfrentarlos?

Los humanos, mayoritariamente, nos caracterizamos por el optimismo. Sin embargo, tal sentimiento puede haber mermado en muchos, por ejemplo, a raíz de los acontecimientos que se desencadenaron en la provincia china de Hubei, a finales de 2019, y que hasta este instante mantienen en vilo a la humanidad. ¿Por qué hemos llegado a una situación como la actual? ¿De quién es la culpa?

Las dos preguntas anteriores nos pueden mantener en debate todo el tiempo que queramos, pero ¿es eso lo que importa? Desde hace muchos años —y con diferentes niveles de intensidad— perso-

nas, instituciones, congregaciones, Gobiernos han venido alertando sobre los problemas que se nos vienen encima y que tienen al planeta Tierra al borde de un colapso irreversible para la especie humana. Pero es evidente que ello no ha sido suficiente para crear la necesaria conciencia de todos.

Si no logramos crear una conciencia colectiva en pro del medio ambiente —la cual pasa por una educación popular y técnica adecuada— y no logramos poner en las manos de cada habitante de este planeta una herramienta que le permita ser parte de la solución, más temprano que tarde habremos perdido la batalla.

El orden económico-mundial globalizado nos ha llevado a un círculo enviciado de consumismo y ambición. Es necesario, de alguna forma, cortar esa línea circular y empezar a pensar en una nueva cultura, un nuevo modelo de desarrollo y bienestar. Los Estados y sus gobiernos, en primera instancia, y las instituciones y organizaciones de cualquier naturaleza en segunda instancia, están en la obligación moral de tomarse un instante y dar vuelta a observar la historia de la humanidad. Porque, por muy absurdo que pueda parecer, ¿no sería recomendable y beneficioso para todos, tal vez, regresar al transporte urbano de tracción animal, por ejemplo, si tenemos en cuenta la comparación entre la huella de carbono de los buses urbanos y la de un transporte tirado por caballos?

Las instituciones de educación superior, como parte relevante de todo este conglomerado de entes con responsabilidad más visible en el asunto, centros importantes de generación de conocimiento y responsables de la aplicación del mismo al servicio social y comunitario, están llamadas a desempeñar un rol protagónico en cuanto a la necesaria toma de conciencia que tanto necesita la humanidad.

Así, la presente obra es, en su justa medida, un grano de arena en esa necesaria playa que debemos conformar el conjunto de la sociedad en ese esfuerzo para que podamos legar algo bueno a las futuras generaciones. Es también una evidencia de que en la Universidad Po-

litécnica Salesiana (UPS) y en su Carrera de Ingeniería Ambiental, en particular, se cuenta con una alta preocupación por contribuir, de la forma en que nos es posible de momento, con esa justa causa.

Ponemos a disposición del lector una pequeña, pero valiosa recopilación de trabajos presentados en el Segundo Simposio Internacional sobre Medio Ambiente (ISE-2019), celebrado en la UPS-Cuenca, los días 6 y 7 de junio de 2019. Estos trabajos reflejan la lucha y preocupación por la búsqueda de soluciones a los problemas del medio ambiente y su protección, elaborados por una reducida muestra de especialistas en el tema en nuestra región y en la UPS, en particular.

El primer trabajo del libro resume los resultados de un estudio llevado a cabo en la Planta Experimental Yumacay, por un grupo de investigadores de la UPS encabezados por Paola Duque Sarango, sobre la reutilización de aguas (residuales) para el riego de plantas de alfalfa. El objetivo de la investigación fue determinar la dosis óptima de riego, considerando las características de crecimiento de la especie y observando las normas de calidad de suelo en la actividad agrícola.

También en temas agrícolas está la contribución de investigadores de la UPS y la Universidad Técnica Particular de Loja, dirigidos por Manuel Ernesto Delgado, quienes abordan el problema relacionado con el manejo del cultivo de tomate de árbol, especie de mucha valía para los ecuatorianos y otros pueblos sudamericanos. Esta planta es frecuentemente atacada por la enfermedad conocida como “mal de semillero”, que provoca la necrosis y posterior muerte de la planta. La referida enfermedad es provocada, principalmente, por un tipo de hongo: el *Pythium aphanidermatum*. ¿Cómo combatirlo y evitar el ataque a la planta de tomate de árbol? Una respuesta a esta interrogante es brindada por este equipo de investigación.

Otra problemática abordada en el libro es la relacionada con la mitigación del daño ecológico y ambiental. Una de las vías para lograrlo es la utilización de fibras naturales en procesos industriales, como una forma viable de disminuir el prejuicio que tal actividad pro-

voca al medio ambiente. Concretamente, el investigador Jorge Amaya Pinos nos cuenta sobre nuevas metodologías para la extracción de los componentes de la biomasa lignocelulósica, a base de hidrólisis ácida, con el objetivo de obtener azúcares fermentables para la obtención de bioetanol: un biocombustible que, aunque no es “limpio”, sus emisiones de gases de tipo invernadero son considerablemente menores que las ocasionadas por los derivados del petróleo.

La contaminación de los espacios públicos en las ciudades es el tema central de la investigación llevada a cabo por investigadores de instituciones municipales de la ciudad de Cuenca y de la UPS. En 1999 la ciudad de Cuenca inició la transformación de la gestión de movilidad, renovando su sistema de transporte público y para 2009 se propuso un nuevo proyecto de movilidad denominado Plan de Transporte Masivo. Su eje principal fue la implementación del tranvía Cuatro Ríos de Cuenca (Hermida, 2015), cuyo proceso constructivo provocó alteraciones significativas al ordenamiento de la urbe. Así, este equipo de investigación presenta los resultados de su indagación en cuanto a la incidencia de otro factor derivado de las obras del tranvía: las variaciones de la concentración de NO₂, medida en las cercanías de las vías por donde circula el tranvía y en vías alternativas. Aquí se comparan datos de los años 2008-2013 con lo obtenido durante 2015, año en que las actividades de construcción alcanzaron un 66% de avance.

Otra de las investigaciones en esta obra está relacionada con la presencia de metales en el medio marino, que llegan allí provenientes de fuentes naturales y, sobre todo, como resultado de la actividad antropogénica que se desarrolla en las riveras de las cuencas de agua. En este caso particular, investigadores de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador) y la Universidad del Zulia (Venezuela), evaluaron las concentraciones de varios metales en el lecho del lago Maracaibo, en su calidad de receptor de varios efluentes de fuentes de metales, relacionadas con la actividad petroquímica, la explotación minera a cielo abierto, la extracción de gas natural y las descargas industriales y domésticas.

Por último, pero no menos importante, se recogen los resultados de una revisión bibliográfica desarrollada por investigadores de la Universidad Católica de Cuenca, en la que nos muestran la relevancia y el efecto de los abusos auto-provocados por los humanos, como puede ser la utilización no justificada de las radiaciones ionizantes. Por ejemplo, según sus hallazgos, los exámenes dentales representan el 21% del total de exámenes radiológicos a nivel mundial. La frecuencia anual se halla entre menos de uno y más de 800 por cada 1 000 habitantes. Las dosis individuales son pequeñas, pero las dosis colectivas no se deben ignorar. Esta revisión permite actualizarnos sobre los efectos biológicos nocivos de la radiación ionizante utilizada en la práctica odontológica y sobre la necesidad de establecer mejores controles y desarrollar medios de protección más eficaces para cuidarnos nosotros mismos.

Invitamos, entonces, a que disfrute de estos nuevos logros científicos, pero más que nada, a que se detenga a meditar por unos minutos sobre estos temas que deben preocuparnos a todo el conjunto de la humanidad. Esperamos que la lectura de estas páginas de consulta científica en temas medio ambientales, también sirvan para que Usted, si aún no lo pensado y hecho, se una al ejército humano que luchamos para que quienes vengan después puedan encontrar un lugar digno para sus vidas.

Reutilización de aguas residuales (purines) para el crecimiento de *Medicago sativa* (alfalfa)

Paola Duque Sarango*

Juan Troya Iriarte*

Lisette Mejía Pesantez*

Miriam Mainato Tenemaza*

Introducción

La reutilización de las aguas residuales proveniente de un lavado de purines es importante por el reuso en la producción de forraje, gramíneas y alfalfa (Thöns *et al.*, 2011; Valdecantos *et al.*, 2002; Lara *et al.*, 2003; Veliz *et al.*, 2010). En la última década, la creciente preocupación por la escasez de agua en varios lugares del mundo es un determinante para el reúso, conservación y aprovechamiento de aguas residuales, regularmente necesarias para riego, pero al mismo tiempo riesgoso por la presencia de contaminantes como parásitos, hongos, bacterias y exceso de nutrientes. El fin de la reutilización de aguas residuales debe cumplir con ser apta desde el punto de vista agronómico, sanitario y ambiental.

La especie *Medicago sativa* (nombre común de la alfalfa) es una leguminosa importante para el forraje, siendo este uno de los

* Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Ingeniería Ambiental.

cultivos más valiosos para la alimentación del ganado, tanto en pastoreo directo como en las distintas formas en que su forraje puede ser conservado. Presenta gran variabilidad en sus características morfológicas y fisiológicas, como en el color de las flores, precocidad y resistencia a bajas temperaturas. Para su cultivo se ha establecido que el pH óptimo debe ser de 7,2 con humedad de 600 a 700 mm anuales de precipitación e iluminación que oscile entre 500 y 600 horas luz/corte, donde la cosecha se produce a los tres meses después de la siembra (Urbano y Dávila, 2003). Su valor radica en su alto potencial para la producción de materia seca, así como la elevada concentración de proteína, que está entre el 20% y 28%, además de su alta digestibilidad y elevado potencial de consumo animal (Padilla, 1979; Flores *et al.*, 2012; De Toledo *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2014; Robledo *et al.*, 2017).

Por otro lado, el purín es el líquido resultante de la fermentación de estiércol de ganado (bovino u ovino), constituyéndose una fermentación anaerobia incompleta que se produce en las fosas, por medio de microorganismos anaerobios estrictos o facultativos. Está constituida principalmente por nitrógeno, potasio y fósforo, además, es alto en hierro y posee bajas concentraciones de sulfuro, sulfatos y cloruros (Torre, 2014; Valdecantos *et al.*, 2002; Lemache, 2015; Fernández, 2018).

Los purines están formados por la fase sólida, pastosa y líquida. La primera se produce a partir de los vegetales no digeridos, siendo la más pobre en nutrientes; la fase pastosa se origina de las heces, teniendo la mayor proporción de nitrógeno y fósforo orgánico; la fase líquida se deriva de las orinas y contiene la mayor parte de nitrógeno orgánico y de los cationes de sodio y potasio. Cuando se usan estas aguas de purines se está sembrando con gran proporción de nutrientes, especialmente para las leguminosas (Delgado *et al.*, 2009; Flotats *et al.*, 1995; Llona y Faz, 2006).

Los purines están cargados con nutrientes beneficiosos para las plantas (elementos esenciales, micro y macro nutrientes) que

pueden ayudarlos a funcionar como una enmienda eficaz del suelo. Desde este punto de vista, el uso agrícola de los mismos permitiría el reciclaje de estos nutrientes y podría ser un enfoque sostenible para el manejo de estos residuos enormemente generados (Sharma *et al.*, 2017). De tal forma que puedan sustituir al fertilizante, modificando sus propiedades físico-químicas y biológicas del suelo. De esta manera, se ha reportado que el rendimiento de los cultivos en un suelo adecuadamente modificado con purines es, generalmente, mayor que el de los controles bien fertilizados (Singh y Agrawal, 2008; Esmatges, 2008; Muelas, 2017).

Estudios como el de Mantovi *et al.* (2005) determinaron que los purines aumentaron la materia orgánica (OM), el N total y el P disponible en el suelo, y redujeron la alcalinidad del suelo, con efectos más evidentes a la tasa más alta, dando rendimientos de cultivo similares al de un fertilizante mineral en las dosis más altas aplicadas. Por otro lado, también se reporta que los biosólidos aumentaron significativamente el contenido de N, P, Zn y Cu en el sembrío experimentado, produciendo notables beneficios para la fertilidad del suelo, pero también se asoció con posibles efectos negativos en la calidad del agua debido a una mayor disponibilidad de P y en la ecología del suelo debido a la acumulación de Zn.

Rahman *et al.* (2008) estudiaron el efecto de los purines de ganado en la producción de forraje de maíz (*Zea mays*), midiendo las características agronómicas, altura de las plantas, circunferencia de los tallos, número de hojas y el rendimiento de materia seca del forraje de maíz. Los autores encontraron que el maíz cosechado a los 56 días de edad mediante la aplicación de 12 ton/ha fue la mejor para la producción de biomasa.

Mancilla *et al.* (2012) realizaron un estudio para determinar la calidad de agua de riego y metales presentes, para ello se tomó 91 muestras de agua duplicada para riego y se analizaron variables como el potencial de hidrógeno (pH), la conductividad eléctrica (CE), As y metales pesados totales: Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn. Los resulta-

dos mostraron valores bajos en la concentración de metales, en agua para riego agrícola y uso urbano, no así para el criterio de consumo humano, pues aproximadamente un 50% de las muestras tomadas, presentaron concentraciones por encima de los límites permisibles para Cd (un 20%). Se concluyó entonces que el agua superficial no representa riesgos para riego agrícola, aunque las descargas de agua residual hacia los ríos, contaminan gravemente y llevan a sobrepasar los límites permisibles para Cd, Hg y Pb.

Guadarrama y Fernández (2015) llevaron a cabo un estudio, que consistió en una caracterización de los metales pesados y su afectación en el suelo, basándose en el reusó de las aguas residuales como agua para riego, ya que en estas hay presencia de metales pesados. Para ello se empleó la siembra de *Medicago sativa* (alfalfa) en una parcela, preparándose soluciones de cobre, manganeso y zinc, a concentraciones crecientes, con un blanco o testigo. Se estableció un sistema de riego de la solución con los metales pesados y el testigo, aplicando cinco bloques de concentración con cuatro repeticiones por cada uno, determinando el impacto sobre el suelo al regar cultivos con aguas residuales sin producir afectación al ser humano. Pero en el caso de los impactos al medio ambiente fue grave si consideramos que el suelo forma parte del medio ambiente, ocasionando salinización al suelo, afectando a la cadena alimenticia, estructura y fertilidad del suelo.

Mora *et al.* (2004) llevaron a cabo un estudio con el fin de generar mayores antecedentes sobre el efecto de los purines. Así, se trató con dosis crecientes de nitrógeno, la una generada por la urea de 200 kg N ha⁻¹ y la otra por los purines de 260 y 520 kg N ha⁻¹, en donde se determinó, luego de tres meses, que el uso de purines en una pastura en dosis altas y en época invernal provocan altas pérdidas por lixiviación de nitratos en su gran mayoría.

Demagnet *et al.* (1995) caracterizaron los purines de origen vacuno con restos orgánicos procedentes de la agricultura, con el fin de comprobar su facultad como fertilizante y mejorador de suelos, eva-

luando parámetros como pH, fósforo y compuestos nitrogenados, por medio de técnicas calorimétricas. Concluyeron que el aporte orgánico es del 50% al 60% del residuo seco, en la caracterización de nitritos, nitratos y amonio no existieron en niveles detectables lo cual significa que es un material no tóxico y aplicable en el crecimiento forrajero de cualquier planta especialmente gramínea y leguminosas.

Con todo lo mencionado, el presente estudio tuvo el objetivo determinar la dosis óptima de riego, reutilizando el agua residual de purines para el crecimiento de la *M. sativa*, tomando en cuenta el crecimiento de la especie sembrada, así como el cumplimiento de la normativa para calidad de suelos en agricultura. Esta investigación se realizó en la Planta Experimental Yumacay de la Universidad Politécnica Salesiana (Azuay-Ecuador).

Materiales y métodos

Área de estudio

La experimentación se ubicó en la estación de Yumacay, de la Universidad Politécnica Salesiana.

Figura 1
Zona de estudio



Fuente: los autores

Sus coordenadas geográficas corresponden a 2°46'54"S 78°45'36"O, situado a 46 km de la ciudad de Cuenca, con una altitud de 2 200 y 2 600 msnm, además de un clima predominante cálido-templado, con temperaturas medias que oscilan entre 15,9 y 19° C, únicamente en el verano existe una diferencia muy marcada, pudiendo llegar a una temperatura máxima de 22° C en el día.

Descripción de ensayo y fase de campo

Se experimentó con la siembra de la especie *Medicago sativa* L (alfalfa morada) en un área de terreno de 200 m², misma que fue dividida en cuatro parcelas (A1, A2, A3 y A4) de igual superficie. El riego se realizó mediante una mezcla de agua de purines del establo experimental, estableciendo un sistema de riego donde el blanco de comparación fue la parcela regada con 100% agua de riego, mientras que las tres parcelas fueron regadas con la mezcla de agua de purines más agua de riego en porcentajes de 25%, 50% y 75% respecto al agua de riego. En la figura 1 se muestra el diagrama de diseño de cada parcela. Las cuatro parcelas fueron de 1,50 m de ancho por 4 m de largo cada una, para la siembra mediante el método de voleo.

Las aguas residuales o purines para experimentar son los que se almacenan en la parte externa del establo, mismos que se embalsan a un flujo constante. Se distribuyeron las parcelas según lo siguiente: la primera sección (A1) fue regada en un 100% agua de riego, en la segunda sección (A2) se realiza con una concentración del 25% de purines y un 75% de agua de riego. En la tercera sección (A3) con una concentración de 50% de purines y 50% de agua de riego. Finalmente, en la cuarta sección (A4) se regó con una concentración de 75% de purines y un 25% de agua de riego.

Figura 2
Protocolo de seguimiento a la planta experimental



Fuente: los autores

Tabla 1
Simbología de riego por parcela

A1	A2	A3	A4
100% agua de riego (45 L).	25% agua residual purines (11,25 L) con 75% agua de riego (33,75 L).	50% agua residual (22,5 L) y 50% agua de riego (22,5 L).	75% agua residual purines (33,75 L) con 25% agua de riego (11,25 L).

Fuente: los autores

Fase de campo

Para el diseño experimental, se preparó el terreno, haciendo un previo retiro de toda el área verde, y procediendo a una siembra por voleado, con semillas de la leguminosa *Medicago sativa*, cubrien-

do toda la extensión del terreno (área) que se procedió a seleccionar, para la respectiva siembra de forraje de la leguminosa ya explicada anteriormente.

La experimentación tuvo una duración de tres meses, desde la siembra hasta los análisis fisicoquímicos y microbiológicos, con tendencia a seguir con la experimentación, siguiendo la línea de investigación, a partir de los resultados obtenidos.

Se realizó la cuantificación de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos. El parámetro medido a nivel de campo es el pH, aplicando el método universal *test paper* (tiras de pH) de forma directa y la tasa media de crecimiento según el método expuesto por Di Benedetto (2016), que consiste en medir con la ayuda de una regla la longitud de la leguminosa por cada 24 horas, desde la base hasta el ápice, obteniendo así la diferencia de longitud, resultando la tasa media de crecimiento diaria, por la ecuación de variación de tamaño.

En cuanto a los parámetros químicos del suelo, se obtuvieron en un laboratorio acreditado, el Laboratorio Experimental de Agua y Suelo INIAP, donde se determinaron los parámetros fisicoquímicos como nitrógeno y fósforo —ambos por calorimetría—, potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre y hierro —mediante absorción atómica—, azufre, cloro, aluminio por volumetría y pH —mediante potenciómetro—.

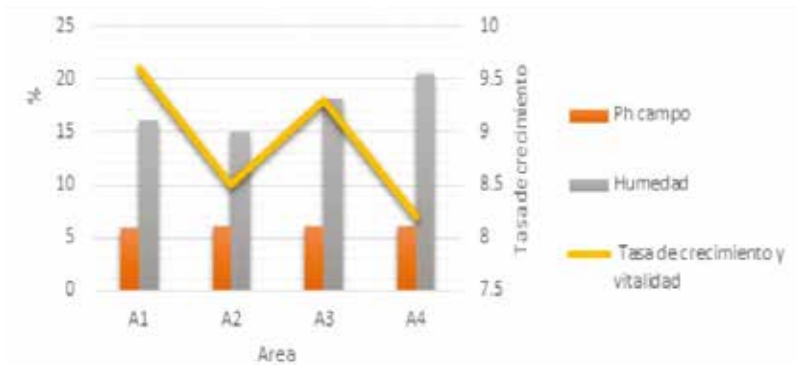
Los parámetros del agua residual (purines) con agua de riego, en diferentes concentraciones, que fueron medidos en el laboratorio de la Universidad Politécnica Salesiana con el equipo Mettler Toledo, fueron el pH y la conductividad; además de parámetros como color, turbidez, DBO, conductividad, sólidos totales, humedad. Todos siguieron el método *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Los nutrientes como fósforo, amonio, nitrito y calcio, así como otros parámetros de hierro, sulfato y cloruro se determinaron por fotometría (Cervera del Castillo, 2011; Hernández, 2006).

Para los parámetros biológicos se aislaron microorganismos como coliformes totales, *Escherichia coli* por el método de número más probable, usando la técnica descrita por Rojas *et al.* (2008).

Resultados y discusión

El análisis de calidad de agua y suelo se presentan en los siguientes gráficos estadísticos.

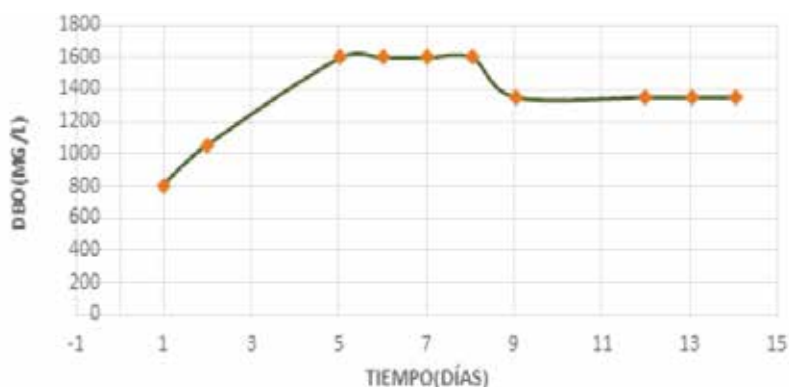
Figura 3
Parámetros de muestra de suelo (pH, humedad,
tasa de crecimiento y vitalidad)



Fuente: los autores

En la figura 3 se aprecia un crecimiento ascendente de la *Medicago sativa* en función al pH y la humedad, teniendo la A1 con mayor tasa de crecimiento, pero con características de marchitamiento altas. En cambio, en la parcela A3 se muestra una tasa de crecimiento óptimo con respecto a su vitalidad, pH y humedad.

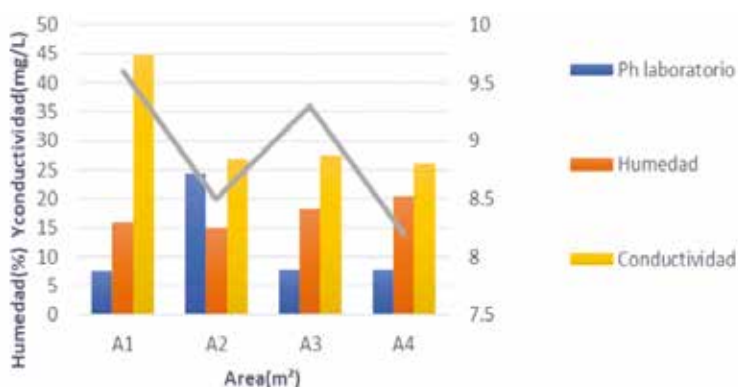
Figura 4
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)



Fuente: los autores

En la figura 4 se aprecia un DBO₅ de las aguas residuales (purines) de 1 600 mg/L, obteniendo la ecuación exponencial: $Y = 1116,3 * e^{0,0234x}$. A partir de los valores medidos en 15 días, se determinó un DBO_{lim} (20 días) de 1782,50494 mg/L, siendo este el oxígeno necesario para degradar la materia orgánica del agua residual.

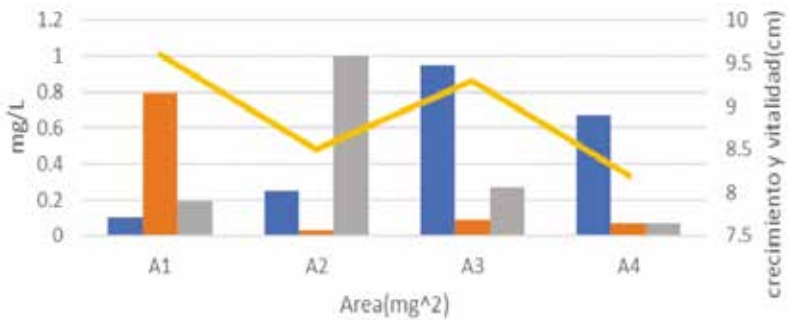
Figura 5
Parámetros fisicoquímicos del volumen de agua residual por cada parcela



Fuente: los autores

En la figura 5 se analiza la conductividad del suelo. Las cuatro parcelas entran dentro de los parámetros de control de calidad, tanto en crecimiento como humedad. La parcela A3 representa mejor variabilidad de crecimiento, debido a su capacidad de campo y factor de crecimiento de la *Medicago sativa* (Alfalfa).

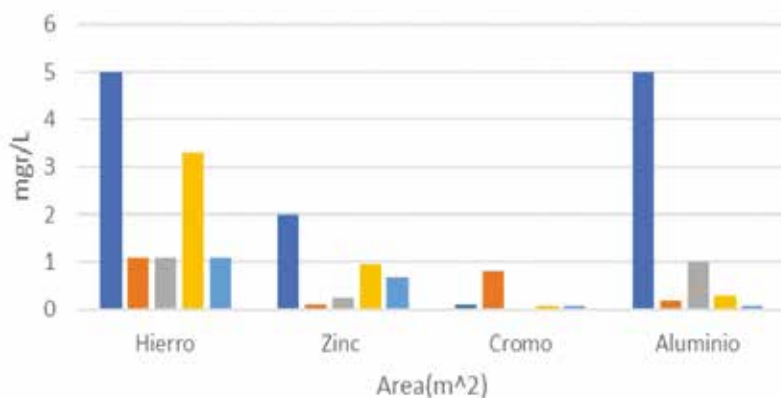
Figura 6
Presencia de metales vs la tasa de crecimiento
y vitalidad por parcela



Fuente: los autores

En la figura 6 se observa un crecimiento ascendente de la *Medicago sativa*, ya que hay una mínima cantidad de zinc y aluminio, siendo estos metales perjudiciales para el crecimiento de la planta. Sin embargo, se ve una cantidad mayor de cromo, pero no representa un peligro para su desarrollo, ya que esto no influye en su crecimiento. Dado que cada uno de los parámetros medidos representa un factor determinante para su crecimiento, se observa que en el A1 hay mayor longitud, pero presenta marchitamiento y su vitalidad es pobre (color no tan verde con manchas cafés y baja fortaleza); en cambio, en A3 hay un menor crecimiento, pero sus características mejoran en vitalidad (color más verde y mayor fortaleza).

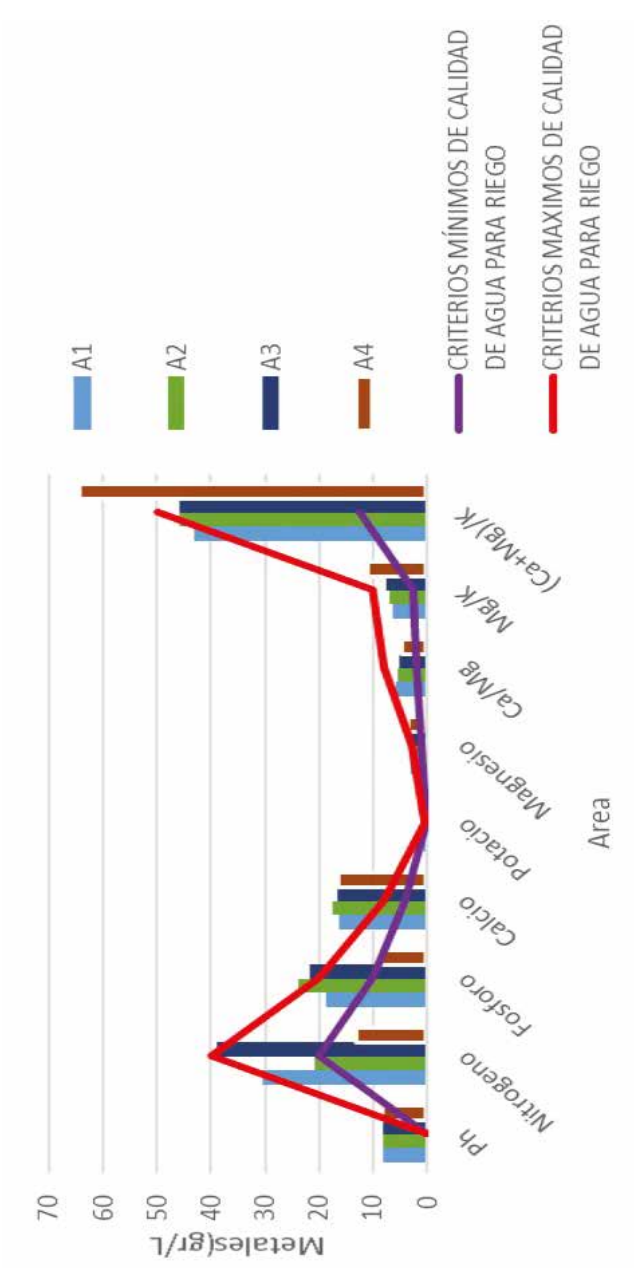
Figura 7
Calidad del agua residual por cada parcela normados por el Tulsman



Fuente: los autores

En la figura 7 se realiza un análisis de calidad del agua residual para riego, comparado con la *Reforma del libro VI del texto unificado de legislación secundaria*, aprobado en mayo del 2015 (acuerdo n° 061), con respecto a los parámetros medidos en el laboratorio a partir de muestras de agua residual (purines). En el A1 se observa que los parámetros como aluminio, hierro y zinc se mantienen dentro de los límites permisibles, mientras que el cromo excede el valor de los límites máximos permisibles. En el A2 se puede observar que los parámetros como aluminio, hierro y cromo se mantienen dentro de la calidad. En el A3 se puede observar que todos los parámetros están dentro de los límites, así como el A4.

Figura 8
Criterios de calidad del suelo



Fuente: los autores

En la figura 8 se comparó los datos obtenidos del INIAP de muestras de suelo por cada parcela, con criterios mínimos y máximos del INIAP, en donde se observa que la parcela A3 está dentro de los rangos de calidad, en parámetros tales como N, K, Mg. Así como la relación Ca/Mg , Mg/K , $(\text{Ca} + \text{Mg})/(\text{K})$, esto debido al contenido óptimo de agua residual (purines) + agua de riego, a una relación de concentración (50/50).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la reutilización de aguas residuales (purines) de la Planta Experimental Yumacay de la Universidad Politécnica Salesiana, sobre la producción de alfalfa, utilizando como referencia el contenido de S. El agua residual (purines) de la planta experimental fue recolectada para su uso y contenía 0,8 mg/L de nitritos, 11,1 mg/L de amonio, 2,25 mg/L de ortofosfatos, en contenidos de metales como el calcio de 8,7 mg/L, cloruro de 15 mg/L, a un pH de 7,73 y sólidos sedimentados de 350 mg/L. La experiencia se realizó sobre un suelo de textura arcillosa, con capacidad de campo (retención de humedad), a una temperatura de 16° C.

El ensayo se sembró el 6 de diciembre de 2018, con una variedad a razón de 0,25 kg/m² de semilla. Los tratamientos fueron: T1 = testigo sin aplicación de agua residual (purines), con un 100% agua de riego; T2 = 25% agua residual (purines), 75% agua de riego; T3 = 50% agua residual (purines), 50% agua de riego; T4 = 75% agua residual (purines), con un 25% agua de riego.

Se utilizó un diseño dividido en cuatro parcelas, con identificadores para cada una y con una superficie de 200 m² (14,14 m x 14,14 m). Se realizó el riego durante tres meses de evaluación, donde se determinó la tasa media de crecimiento en función a su vitalidad, así como también parámetros fisicoquímicos y biológicos, comparados con la normativa de calidad de agua y suelo para uso de riego, regulado por el Tulsman 2015. Los datos fueron analizados mediante el análisis de la varianza, comparándose las medias con la prueba de Tukey.

Se encontraron diferencias entre los tratamientos ($p < 0,05$) para el crecimiento de la tasa media diaria, pero no se encontraron diferencias en conductividad y aluminio. La parcela A3 presentó diferencias significativas con el testigo, en la tasa de crecimiento, de 9,3 cm, así como un incremento de hierro de 3,3 mg/L. Esto está explicado dado que la alfalfa respondió positivamente a una aplicación del 50% de purines y 50% agua de riego, y parámetros íntimamente relacionados con el contenido de P y S del suelo. La presencia de macro y meso nutrientes, así como la actividad microbiana creciente proporcionados por los purines, podrían complementar los beneficios obtenidos. La producción de forraje con la utilización estratégica, de la aplicación del agua residual (purines), con agua de riego es una buena opción para mejorar la eficiencia del reciclado de nutrientes y aumentar la oferta forrajera.

Conclusiones

Una aplicación directa de aguas residuales (purines) representa un riesgo para los cultivos y para el ambiente cuando estas se presentan en cuerpos de agua o suelo, pero cuando estas se reutilizan en concentraciones crecientes de agua de riego (agua residual + agua de riego) resultan beneficiosas, tanto a nivel de nutrientes como tasa vital de crecimiento. A partir de análisis de laboratorio (físicos, químicos y biológicos) se determinó que la parcela A3, con 50% de purines y 50% de agua de riego, resultó ser la dosis óptima para el crecimiento de forraje de leguminosas como la *Medicago sativa*, ya que se determinó una relación directa de la calidad de nutrientes y humedad, así como la tasa de crecimiento en vitalidad diaria, y comparado con la normativa de calidad de agua y suelo para uso de riego Tulsman Anexo VI actualizada en el 2015.

Bibliografía

Cervera del Castillo, O. (2011). *Tratamiento de purines para la producción de biomasa microalgal*. Recuperado de <https://bit.ly/3l5jUJi>

- Damián, L. y Cristina, P. (2015). *Utilización de diferentes té de estiércol en la producción de Medicago sativa (alfalfa), variedad flor morada* (Tesis de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). doi: UDCTZ;17T1259.
- De Toledo, G., da Silva, L., de Quadros, A., Retore, M., Araújo, I., Brum, H. y Melchior, R. (2008). Productive performance of rabbits fed with diets containing ramie (*Boehmeria nivea*) hay in substitution to alfalfa (*Medicago sativa*) hay. *9th World Rabbit Congress* (vol. 830). Verona. Recuperado de <https://bit.ly/3l38GVu/>
- Delgado, M., Miralles, R. y Martín, J. (2009). Impacto ambiental del purín de cerdo empleado como fertilizante. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, (8). Recuperado de <https://bit.ly/30yCyjb/>
- Demagnet, R. (1995). Caracterización de purines para su potencial uso como fertilizante y mejorador de suelos. *Agricultura Técnica*, 55(3-4), 251-25. Recuperado de <https://bit.ly/3bz9aPU/>
- Di Benedetto, A. y Tognetti, J. (2016). Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *RIA: Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42. Recuperado de <https://bit.ly/3rBZr14/>
- Esmatges, M. (2008). *Informe para la mejora de la gestión de los purines porcinos en Cataluña*. Generalitat de Catalunya, Consell Assessor per al Desenvolupament Sostenible. Recuperado de <https://bit.ly/38uebrb/>
- Fernández, M. (2018). *Dimensionamiento de una planta para la valorización mediante digestión anaerobia de los purines generados en una granja porcina*. Recuperado de <https://bit.ly/3l2hbjH/>
- Flores-Aguilar, J., Vázquez-Rosales, R., Solano-Vergara, J., Aguirre-Flores, V., Flores-Pérez, F., Bahena-Galindo, M. y Orihuela-Trujillo, A. (2012). Efecto de fertilizante orgánico, inorgánico y su combinación en la producción de alfalfa y propiedades químicas del suelo. *Terra Latinoamericana*, 30(3), 213-220. Recuperado de <https://bit.ly/2N5cGrX/>
- Flotats, X. et al. (1995). Metodología para el manejo integral de purines de cerdo. *Actas del IV Congreso de Ingeniería Ambiental*. Bilbao. Recuperado de <https://bit.ly/3qzDFtA/>
- Guadarrama-Brito, M. y Fernández, A. (2015). Impacto del uso de agua residual en la agricultura/Impact of wastewater use in agriculture. *CIBA: Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 4(7), 22-44. Recuperado de <https://bit.ly/3t8uqCg/>

- Hernández-Acosta, E., Quiñones-Aguilar, E., Cristóbal-Acevedo, D. y Rubiños-Panta, J. (2014). Calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros en Tulancingo, Hidalgo, México. *Revista Chapingo*, 20(1), 89-100. Recuperado de <https://bit.ly/3byOEPy/>
- Hernández García, D. (2006). *Utilización del purín de cerdo como enmienda orgánica en suelos degradados: valoración agronómica y ambiental*. Recuperado de <https://bit.ly/30wBNqY/>
- Lara, J. y Hernández, A. (2003). *Reutilización de aguas residuales: aprovechamiento de los nutrientes en riego agrícola*. Seminario Internacional sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales. Instituto Cinara, Universidad del Valle. Recuperado de <https://bit.ly/3qGrtaw/>
- Lin, S. y Leu, H. (1999). Operating characteristics and kinetic studies of surfactant wastewater treatment by Fenton oxidation. *Water Research*, 33(7), 1735-1741. Recuperado de <https://bit.ly/30ChRCJ/>
- Llona, M. y Faz, A. (2006). Efectos en el sistema suelo-planta después de tres años de aplicación de purín de cerdo como fertilizante en un cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* L.). *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, 6(1), 41-51. Recuperado de <https://bit.ly/2OKidEH/>
- Mancilla-Villa, Ó., Ortega-Escobar, H., Ramírez-Ayala, C., Uscanga-Mortera, E., Ramos-Bello, R. y Reyes-Ortigoza, A. (2012). Metales pesados totales y arsénico en el agua para riego de Puebla y Veracruz, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(1), 39-48. Recuperado de <https://bit.ly/3v6Zggp/>
- Mantovi, P., Baldoni, G. y Toderi, G. (2005). Reuse of liquid, dewatered, and composted sewage sludge on agricultural land: effects of long-term application on soil and crop. *Water Research*, 39(2-3), 289-296. Recuperado de <https://bit.ly/3bxeT96/>
- Maison, E. M. (1998). *Generación de residuos de ganadería vacuna (purines) en Asturias: problemática y tratamiento*. Universidad de Oviedo. Recuperado de <https://bit.ly/3t68tDN/>
- Mora, M., Ordoñez, C., Cartes, P., Vistoso, E., Pino, J., Jara, A. y Demanet, R. (2004). *Reciclaje de nitrógeno proveniente de purines en una pastura de Lolium perenne L.* Simposio de Residuos Orgánicos y su Uso en Sistemas Agroforestales, Temuco. Recuperado de <https://bit.ly/3v5XLim/>

- Muelas Ramos, V. (2017). Colaboraciones en ciencias de la naturaleza: purines, su impacto medioambiental en España. *Revista 100cias@UNED*, 10, 101-105. Recuperado de <https://bit.ly/3ccpPb6/>
- Padilla, G. (1979). *Guía de recomendaciones de fertilización para los principales cultivos del Ecuador*. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/432>.
- Rahman, S., Islam, M., Rahman, M. y Oh, D. (2008). Effect of cattle slurry on growth, biomass yield and chemical composition of maize fodder. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(11), 1592-1598. Recuperado de: <https://bit.ly/3chNxms/>
- Rate, A. (1997). Management and re-use of piggery effluent. En P. Cranwell (ed.), *Manipulating Pig Production VI*. Australasian Pig Science Association, Werribee, Australia. Recuperado de <https://bit.ly/2OK2K7y/>
- Robledo Zacarías, V., Velázquez Machuca, M., Montañez Soto, J., Pimentel Equihua, J., Vallejo Cardona, A., López Calvillo, M. y Venegas González, J. (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de Morelia, Michoacán, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(2), 221-235. Recuperado de <https://bit.ly/3bAJySS/>
- Rojas, M., Bonilla, L. y Cuéllar, J. (2016). Diseño de un sistema experto para reutilización de aguas residuales tratadas. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 26(2), 1. Recuperado de <https://bit.ly/3qBqxEf/>
- Rojas-Higuera, N., Sánchez-Garibello, A., Matiz-Villamil, A., Salcedo-Reyes, J., Carrascal-Camacho, A. y Pedroza-Rodríguez, A. (2010). Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y *Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. *Universitas Scientiarum*, 15(2). Recuperado de <https://bit.ly/3l4nd35/>
- Sharma, B., Sarkar, A., Singh, P. y Singh, R. (2017). Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. *Waste Management*, 64, 117-132. Recuperado de <https://bit.ly/2OJnsV7/>
- Silva, J., Torres, P. y Madera, C. (2008). Reúso de aguas residuales domésticas en agricultura. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 347-359. Recuperado de <https://bit.ly/2OEawQv/>
- Singh, R. y Agrawal, M. (2008). Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management*, 28(2), 347-358. Recuperado de <https://bit.ly/38smtQa/>

- Thöns, H., Kreil, W. y Simon, W. (2011). Aplicación de purines mediante riego por aspersión y su influencia sobre la producción de forraje de gramíneas. *Pastos*, 5(2), 506-511. Recuperado de <https://bit.ly/3bvs1LU/>
- Torre, Á. (2014). *Postratamiento mediante cultivo de microalgas del efluente procedente de la codigestión de estiércol de vacuno con suero de queso: análisis estadístico* (Tesis de la Universidad de Cantabria). Recuperado de <https://bit.ly/3rEwHVw/>
- Valdecantos, A., Fuentes, D., Cortina, J. y Casanova, G. (2002). Aprovechamiento de los purines. Requisitos para su utilización agraria y forestal. *Porci*, 71, 43-56. Recuperado de <https://bit.ly/3v9jMwO/>
- Veliz Lorenzo, E., Llanes Ocaña, J., Asela Fernández, L. y Bataller Venta, M. (2009). Reúso de aguas residuales domésticas para riego agrícola: valoración crítica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 40(1). Recuperado de <https://bit.ly/3v6KPZL/>

Radiación ionizante y sus efectos biológicos en la práctica odontológica: revisión bibliográfica

¹ Mariela Ramírez-Velásquez*
Magdalena Molina*
Andrés Domínguez*

Introducción: historia de los rayos X y sus inicios en la odontología

El descubrimiento de los rayos X en octubre del año de 1895 por Wilhelm Conrad Röntgen marcó un hito en la historia de la medicina, al descubrir inadvertidamente la proyección de los huesos de su mano, al pasar corriente por un tubo de Crookes, estudiando desde entonces las descargas eléctricas en tubos de rayos catódicos

La aplicación de los rayos X primero se limitó a la descripción de la estructura ósea en el rango de las extremidades. Sin embargo, a medida que fue creciendo el nivel de conocimiento, también se empezaron a reconocer numerosas alteraciones anatómicas y enfermedades de los huesos, haciendo posibles tratamientos más exitosos. La primera radiografía de un órgano del tórax *in situ* fue hecha por el escocés John MacIntyre (1857-1923). Con un tiempo de exposición

* Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.

de 60 minutos y radiografías bastante borrosas, el diagnóstico solía ser muy limitado. Se basaba en detalles como la forma y el tamaño del corazón, la posición del diafragma, las extensas sombras provocadas por el líquido pleural, la translucidez por neumotórax, el ensanchamiento del mediastino y la descripción de los huesos del tórax. En cuanto al uso de agentes de contraste, los primeros intentos fueron de Eduard Haschek (1875-1947) y Otto Lindenthal (1872-1947) en Viena. Ellos utilizaron una mezcla de Teichmann, compuesta por cal, cinabrio (mercurio) y petróleo, para tomar una radiografía de los vasos sanguíneos de una mano amputada. (Busch, 2016)

La radiología se popularizó a otros campos como la odontología, donde Frederic Otto Walkhoff, profesor de la Universidad de Braunshweig en 1896 consiguió tomar una foto a su molar, utilizando un tiempo de exposición a los rayos X de 25 minutos. En la misma época, William Herbert Rollins construye la primera unidad dental de rayos X, ofertando un fluoroscopio intraoral, el cual contenía una cobertura de plomo como elemento protectorio de la irradiación a la que se sometía anteriormente el paciente. El uso de este aparato, así como el del éter en la extracción dental se atribuye a W. J. Morton, de Nueva York, quien además aportó bases científicas sobre el uso de los rayos X en la práctica odontológica. De este modo, muchos años después, es Frank Van Woert el primer profesional en usar una película radiográfica intrabucal, observándose con claridad los dientes posteriores (Dávalos, 2013).

Radiología en la actualidad

En las últimas dos décadas la radiología diagnóstica se ha transformado notablemente. Los avances tecnológicos han modificado la práctica clínica con resultados excelentes y, en la actualidad, la especialidad aborda cuestiones muy extensas, con la participación de sus departamentos en todas las áreas de atención al paciente.

Los progresos han sido el resultado de una fructífera interacción entre las ciencias básicas, la medicina clínica y los fabricantes. Ahora contamos con radiología intervencionista, ecografías, tomografías computadas, resonancias magnéticas, tomografías y resonancias por emisión de positrones. El tradicional medio de contraste ha sido reemplazado por agentes modernos y la película radiográfica está siendo sustituida por la imagen digital. A su vez, la introducción de la tomografía por emisión de positrones y, más recientemente, de las técnicas de imagen molecular ha generado grandes avances en los métodos de imagen funcional, al punto que es muy posible que esta área del diagnóstico por imágenes cumpla un gran papel en el futuro, cuando se evalúen las alteraciones funcionales y patológicas observadas en los tejidos. De hecho, este método podría revolucionar el diagnóstico y seguimiento del cáncer. Además, la especialidad cada vez avanza más hacia un diagnóstico por medio de formas no invasivas y hacia un tratamiento quirúrgico mínimamente invasivo (Busch, 2016).

El modo de trabajo de los radiólogos también ha experimentado un profundo cambio durante los últimos veinte años. El mayor compromiso clínico y el abordaje multidisciplinario están produciendo mejores resultados y una mejor atención del paciente. En esta era digital, es fundamental que los radiólogos sigan desempeñando un papel central en el manejo y tratamiento, así como también que no se vean abrumados por los avances tecnológicos masivos (Busch, 2016).

La ionización de la materia causa diferentes efectos en ella, estos efectos son de amplia utilización en la industria, agricultura, investigación, docencia y la medicina. Quizá sea en este último donde se den los más rápidos avances y significativos en el uso de las radiaciones ionizantes. En medicina, el uso de radiaciones ionizantes se encuadra en la aplicación de técnicas de radiodiagnóstico, radioterapia y medicina nuclear. El radiodiagnóstico comprende el conjunto de procedimientos de visualización y exploración de la anatomía humana mediante imágenes y mapas. Algunas de estas aplicaciones son la obtención de radiografías mediante rayos X o radiaciones electro-

magnéticas invisibles al ojo humano y capaz de atravesar cuerpos opacos, el uso de radioisótopos en la tomografía computarizada para generar imágenes tridimensionales del cuerpo humano, la fluoroscopia y la radiología intervencionista, que permite el seguimiento visual de determinados procedimientos quirúrgicos.

La radiación es energía emitida que se transfiere por el espacio con influencia o no en la estructura atómica de la materia (Gómez y Pico, 2013; Vásquez y Villacis, 2019). Con el descubrimiento de las radiaciones ionizantes y su aplicación en el área de la medicina, surge la necesidad de desarrollar protocolos para la protección de los técnicos que la aplican, los beneficiarios y el público en general, contra sus efectos. Según el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), “la aplicación de las radiaciones ionizantes en el campo de la salud es el responsable de la mayor contribución a la exposición de la población”. De entre todos los principales organismos internacionales que formulan recomendaciones sobre protección radiológica entre otros aspectos vinculados con el uso de las radiaciones ionizantes se pueden nombrar: el OIEA, la Comisión Internacional de Protección Radiológica (CIPR), la Agencia de Energía Nuclear de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (NEA/OCDE) y el Organismo Internacional de Energía Atómica. La CIPR, en su publicación n° 60, de 1990, presenta sus recomendaciones para el establecimiento del Sistema de Protección Radiológica, cuyo objetivo es disponer de una metodología estructurada para la protección contra los efectos adversos de las radiaciones ionizantes.

Los exámenes dentales son el tipo más frecuente de estudio radiológico y representan el 21% del total de exámenes a nivel mundial. La cifra anual de exámenes dentales se estima que es de 520 millones, aproximadamente, y su frecuencia anual se halla entre menos de uno y más de 800 por cada 1 000 habitantes. Las dosis individuales son pequeñas, pero las dosis colectivas no se pueden ignorar, debido a la gran cantidad de exámenes que se realizan, según el OIEA. De allí la importancia de esta revisión cuyo objetivo permi-

tirá actualizar los conocimientos y analizar la literatura reportada sobre los efectos biológicos de la radiación ionizante utilizada en la práctica odontológica y contribuirá, además, como texto didáctico de referencia, proporcionando y resumiendo la información publicada sobre el tema.

Materiales y método

Se realizó una revisión no sistemática de publicaciones recientes sobre los efectos biológicos de la radiación ionizante en la práctica odontológica. La búsqueda y la selección de la información se realizó mediante la lectura y análisis del material bibliográfico seleccionado a través de las bases de datos Redalyc, SciELO, Latindex y Dialnet, tomando en cuenta su origen, revista, tema y fecha de publicación. Se consideraron artículos publicados en los últimos diez años y como palabras clave para la búsqueda se utilizaron: rayos X, radiación ionizante, personal dental, efectos biológicos.

Resultados

Radiación: clasificación

La radiación es energía emitida que se transfiere por el espacio con influencia o no en la estructura atómica de la materia. Las radiaciones ionizantes y en particular los rayos X son catalogados como agentes capaces de producir daño orgánico, ya que la radiación interacciona con los átomos de la materia viva, generando en ellos el fenómeno de ionización que causan cambios importantes en células, tejidos, órganos en el individuo y su descendencia (Gómez y Pico, 2013; Vásquez y Villacis, 2019).

La radiación se puede clasificar en radiaciones no ionizantes e ionizantes según los efectos producidos por el contacto corpuscular. Las *radiaciones no ionizantes* incluyen los rayos ultravioletas (UV), infrarrojos y microondas. En las células se ha considerado la posibilidad de que puedan generar descomposición de calor, pero aún se

desconoce si pueden generar efectos microscópicos. Las *radiaciones ionizantes* por su parte incluyen los rayos X, gamma, alfa y beta. Estos tipos de radiaciones son capaces de crear daño de tipo significativo o no en células humanas. En nuestro organismo, la acción ionizante se evidencia en rupturas de cromosomas, donde los cambios pueden incluir las consecuentes deleciones o translocaciones anormales, estos efectos se pueden apreciar durante la división celular, lo que provoca su desarrollo anormal o muerte (Tirado-Amador, *et al.*, 2015).

Rayos X: propiedades y mecanismo de acción

Los rayos X, al igual que las ondas de radio, las ondas de microondas, los rayos infrarrojos, la luz visible, los rayos ultravioletas y los rayos gamma, son radiaciones de naturaleza electromagnética. En dependencia del efecto que provocan sobre las moléculas se clasifican como radiaciones ionizantes, debido a que al interactuar con la materia producen la ionización de los átomos de la misma, es decir, origina partículas con carga con una alta reactividad.

El nombre de rayos X designa una radiación que no es visible, sin embargo, puede atravesar cuerpos opacos e imprimir las películas fotográficas. Dichas ondas tienen una longitud de onda entre 0,1 y 10 nanómetros (nm), correspondiendo a frecuencias en el rango de 30 a 3 000 pico Hertz (de 50 a 5 000 veces la frecuencia de la luz visible). Los rayos X tienen la propiedad de excitar la fluorescencia de determinadas sustancias y ser absorbidos por los medios biológicos. Respecto al mecanismo de acción de los rayos X, se explica sobre la base de la teoría mixta corpuscular-ondulatoria: tienen una alta frecuencia y una baja longitud de onda (Fuentes Puebla *et al.*, 2015).

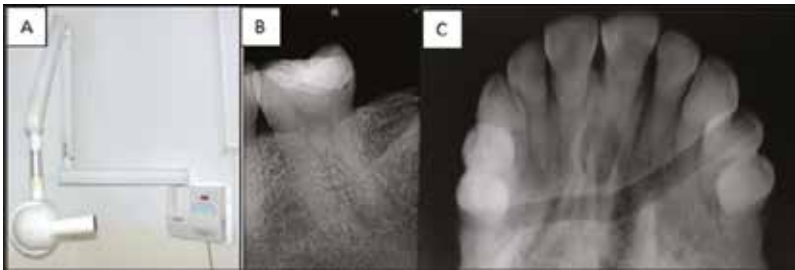
Rayos X en odontología

Las distintas técnicas radiológicas utilizadas en odontología se resumen en radiografías intraorales y extraorales. Las radiografías intraorales son radiografías aisladas de los dientes, realizadas colo-

cando la película dentro de la boca del paciente. Son de tres tipos: proyecciones periapicales, proyecciones de aleta mordida o *bite-wing* y proyecciones oclusales (figura 1). En las radiografías periapicales se observa el diente completo y las estructuras que lo rodean proporcionando a través de una imagen bidimensional una visión detallada de la anatomía y de las estructuras que rodean al diente (Nejaim, 2015). Las radiografías de aleta mordida muestran las coronas de los dientes superiores e inferiores y las crestas alveolares adyacentes en una sola imagen, mientras que las radiografías oclusales permiten visualizar un área de hueso y dientes mayor que en las imágenes periapicales.

Figura 1

A: equipo radiográfico periapical, B: radiografía periapical, C: radiografía oclusal



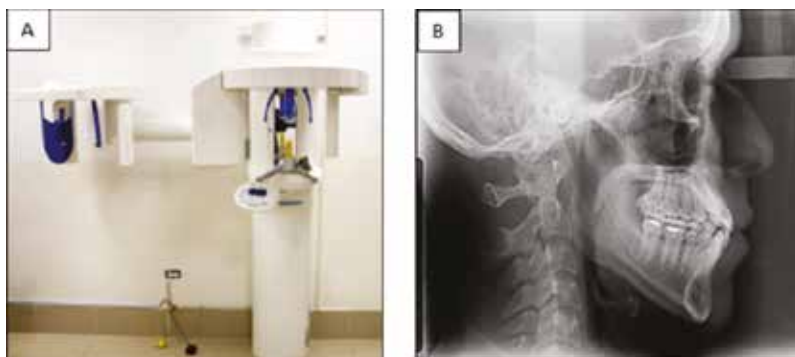
Fuente: los autores

Las radiografías extraorales (figura 2) son exámenes de la región orofacial, que se emplean para el estudio de áreas no cubiertas por las proyecciones intraorales o para visualizar el cráneo y las estructuras faciales. En estas la película o detector se colocan fuera de la boca. Entre las radiografías extraorales, en primer lugar, se encuentra las radiografías craneales que requieren un posicionamiento adecuado del paciente mediante la utilización de marcas de posición esqueléticas y un sistema que permita colocar correctamente la cabeza (cefalostato). Se utilizan como líneas de referencia el plano de Frankfort, que conecta el borde superior del conducto auditivo externo con el borde infraorbitario, y el plano cantomeatal definido

por el centro del conducto auditivo externo y el ángulo externo del ojo (forma un ángulo de 10° con el plano anterior). Las radiografías craneales se realizan a partir de tres proyecciones estándares: posteroanterior, lateral y axial (Ubeda *et al.*, 2018).

Figura 2

A: equipo radiográfico extraoral, B: radiografía extraoral lateral de cráneo



Fuente: los autores

La radiografía panorámica u ortopantomografía (figura 3) constituye la herramienta más básica que aporta información general en la práctica odontológica. Proporciona información general sobre el tercio medio e inferior de la cara, incluyendo los maxilares superior e inferior, las articulaciones temporomandibulares, así como los senos maxilares. Proporciona buena información, además, sobre el desarrollo dental o cualquier alteración que se presente, además se pueden observar en ellas lesiones óseas, inflamatorias o traumáticas.

Figura 3
Radiografía extraoral panorámica



Fuente: los autores

La tomografía computarizada (TC) (figura 4) consiste en una exploración de cráneo donde el plano de corte es paralelo al reborde alveolar, los cortes son generalmente de 1 mm de grosor y espaciados cada 1 mm. Se realizan por separado de maxilar inferior y de maxilar superior, y un programa específico de reconstrucción nos muestra imágenes transversales y panorámicas múltiples de los maxilares. Es de gran utilidad en implantología, ya que proporciona medidas anatómicas muy exactas. Posteriormente, la TC evolucionó hacia la tomografía computarizada multidetector (MDCT), donde la matriz de detectores (compuesta por más de una fila de estos) y el tubo de rayos X giran en conjunto. Las adquisiciones helicoidales se realizan mediante la tecnología de anillo deslizante (Ubeda *et al.*, 2018).

Figura 4
Tomografía médica



Fuente: los autores

Finalmente, la tomografía computarizada Cone-Beam (TCCB) (figura 5) es una tecnología que genera información en 3D con menos dosis de radiación que otras técnicas tomográficas. Presenta numerosas ventajas debido a su exactitud, alta velocidad de escaneado y seguridad, en el campo odontológico. La TCCB constituye una ayuda diagnóstica de suma importancia cuando las imágenes radiográficas convencionales no dejan visualizar con detalle las estructuras anatómicas normales, donde el haz de rayos X posee forma cónica, irradiando una matriz bidimensional de detectores para formar la imagen (Ramírez *et al.*, 2018).

Figura 5

A: tomografía Cone Beam, B: reconstrucción 3D Cone Beam



Fuente: los autores

Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes

Los efectos ionizantes de los rayos X se producen de acuerdo a la cantidad de radiación absorbida (energía) y la radio-sensibilidad de las células que la absorben (Salazar *et al.*, 2012). La radiación transfiere energía a las moléculas de las células que conforman los tejidos. Como resultado de esta interacción, las funciones de las células se deterioran temporal o permanentemente y ocasionan incluso la muerte (Cascon, 2009). La gravedad de la lesión depende del tipo de radiación, la dosis absorbida, la velocidad de absorción y la sensibilidad de los tejidos (Donald, 2013).

Es necesario establecer una conciencia cultural sobre el uso indiscriminado de la radiología odontológica, a tal punto que en reuniones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha planteado que “la radiología diagnóstica es la causa más importante de exposición humana a fuentes artificiales, también sabemos que el grado de seguridad alcanzado hasta hoy es muy elevado minimizando el riesgo inevitable del paciente y compensándolo con los beneficios de los mismos” (Fuentes *et al.*, 2015).

Los rayos X tienen la propiedad de atravesar los cuerpos, producir fluorescencia de determinadas sustancias y ser absorbidos por los medios biológicos, entre otras propiedades, que le dan su importante uso en las ciencias médicas (Salazar, 2012). Los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes son la consecuencia de un número importante de fenómenos desencadenados por el paso de la radiación a través de un medio. Inicialmente se producen ionizaciones y excitaciones de átomos y moléculas del medio. Estas alteraciones físicas provocan una compleja serie de reacciones fisicoquímicas, luego químicas y, finalmente, un efecto biológico a nivel molecular, subcelular, celular y tisular (Fuentes *et al.*, 2015).

Una célula afectada por la ionización puede reparar el daño o no repararlo y sobrevivir o morir. Si sobrevive, podrá continuar con sus funciones normales o sufrirá modificaciones que producirán la pérdida de los mecanismos de control sobre su capacidad de multiplicación (carcinogénesis) (Ramos *et al.*, 2013). Cuando la radiación causa excitación o ionización en un sistema biológico, especialmente en el nivel de moléculas críticas (proteínas, enzimas, ADN, membranas, etc.), se produce el daño de este sistema por acción de la energía entregada. Este mecanismo se denomina “efecto directo”, pero dado que los sistemas biológicos son sistemas esencialmente acuosos, la energía absorbida en ese volumen de agua generará moléculas intermedias (radicales libres) con gran reactividad química, que dan lugar a los mecanismos secundarios o indirectos de daño.

Los radicales libres son moléculas o fragmentos de moléculas que poseen electrones desapareados en sus orbitales externos, propiedad que les confiere gran reactividad química. El daño producido por los radicales libres se denomina “efecto indirecto” (Méndez *et al.*, 2014). Los efectos nocivos de los rayos X son válidos para toda radiación ionizante y se pueden estudiar en fases como las que se presentan a continuación, sin que ello no implique efectos simultáneos (Sierra, 2011):

1. *Fase de reacción físico-química.* Es la fase de interacción con el agua (70%), molécula más frecuente en los tejidos. Tales efectos se pueden secuenciar como:

- Excitación de la molécula que absorbe la energía de la radiación X, seguida de ionización. Ejemplo: radiolisis del agua.
- Generación de productos de ionización con alto contenido en energía, tales como los radicales libres que son muy reactivos. Ejemplo: iones del agua y radicales libres del agua.
- Recombinación y reacciones químicas de radicales libres. Ejemplo: reacción de formación de dióxígeno (O_2), de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

2. *Fase de reacción bioquímica.* En esta fase los rayos X interactúan con cualquier molécula biológica, en cual pueden generar cambios transitorios o permanentes, tales como:

- Efectos sobre los enlaces formados por puentes de hidrógeno y disulfuro entre cadenas peptídicas, entre aminoácidos y la estructura cuaternaria de las proteínas, provocando alteración en sus funciones, como es el caso de las enzimas, anticuerpos, receptores.
- Efectos sobre los enlaces de los ácidos nucleicos y sobre nucleótidos, de consecuencias variables, lo que puede llegar hasta la mutación genética.
- Efectos sobre las moléculas de lípidos.

3. *Fase de efecto biológico.* A nivel de estructuras celulares, subcelulares, tejidos y órganos se pueden producir los siguientes procesos, de acuerdo a la sensibilidad de las células irradiadas (tipo, grado de mitosis):

- Efecto más intenso en sistemas de mayor actividad reproductiva, mitótica y menor diferenciación morfológica y funcional.

- Efecto sobre los órganos puede afectar su funcionalidad, desde las fases metabólicas hasta sus funciones específicas.

La acción de estas sobre los átomos y moléculas provoca la división en iones (átomo o grupo de átomos con signo eléctrico contrario) y al volverse a unir lo hacen bajo nuevas formas químicas (Cascon, 2010), es decir, se forman nuevas variantes de las moléculas originales que al entrar en procesos celulares vitales desencadenan transformaciones, que en la mayoría de los casos son irreversibles, como es la muerte celular por procesos de necrosis (Donald *et al.*, 2013).

Los seres vivos continuamente estamos expuestos a niveles bajos de radiación ionizante procedente del sol, las rocas, el suelo, fuentes naturales del propio organismo. Además de ciertos productos de consumo y materiales radiactivos liberados desde hospitales y plantas asociadas a la energía nuclear (Salazar *et al.*, 2012). Los trabajadores expuestos a mayor cantidad de radiaciones son los astronautas (debido a la radiación cósmica), los especialistas en imagenología, los que laboran en una instalación radiactiva o nuclear y los investigadores que utilizan los rayos X en sus estudios. Por otra parte, se recibe una exposición adicional con cada examen de rayos X y de medicina nuclear, dependiendo esto de la cantidad y el número de exposiciones (Fuentes *et al.*, 2015).

Aquino *et al.* (2010) plantean que la exposición a bajos niveles de radiación ionizante del ambiente no afecta la salud de los seres humanos. El ministerio de energía renovable y sus entidades correspondientes dedicados a la protección radiológica oficialmente utilizan la hipótesis conservadora de que incluso en dosis muy bajas o moderadas, las radiaciones ionizantes aumentan la probabilidad de contraer cáncer, y que esta probabilidad aumenta con la dosis recibida, recalcando sin embargo que esto será únicamente por probabilidad (Ministerio de Energía Renovable, 2012).

1. *Efectos estocásticos*. Son eventos probabilísticos, no tienen un umbral (dosis específica) y su probabilidad de ocurrencia au-

menta con la dosis. Se consideran graves, equivalentes a un evento fatal. Se producen por daño al ADN (mutación en un oncogén o en un gen supresor de tumores), el cual puede derivar en la producción de cáncer (Hidalgo, 2013).

2. *Efectos determinísticos*. Los efectos determinísticos son aquellos cuya frecuencia y gravedad dependen de la dosis y tienen un umbral por debajo del cual no se observan (Hidalgo, 2013). Algunos ejemplos de este tipo de efectos determinísticos incluyen opacidad del cristalino (cataratas) o lesiones en la piel como eritema, depilación o necrosis. El tiempo necesario para que un efecto se manifieste se denomina “período de latencia”, el cual puede ser de horas, días o semanas para los efectos tempranos o bien de meses o años en los efectos tardíos. Se producen por la sobreexposición a las radiaciones con dosis que superan el umbral. Esta sobreexposición puede ser externa (exposición a fuentes de rayos X) o interna (material radiactivo en el organismo como el yodo 131), instantánea o prolongada, o sobre todo el cuerpo o en parte de él. En estos casos se produce la muerte de una cantidad de células tal que no puede ser compensada por la proliferación de células sobrevivientes y viables. La pérdida resultante de células puede causar deterioros graves de la función de un órgano o tejido, clínicamente detectables (Muñoz *et al.*, 2016).

El efecto determinístico que puede ocurrir con mayor probabilidad en una sobreexposición aguda es la interacción de las radiaciones sobre la piel, el cual es dependiente de la dosis, de la profundidad y del área de la piel irradiada. La escala de gravedad de los síntomas es la misma que para las quemaduras comunes: eritema, edema, ampollas, úlceras, necrosis y esclerosis (Méndez *et al.*, 2014). Con una dosis única de 6-8 Gy en un campo de 5 cm² el eritema inicial aumenta durante la primera semana, pero desaparece progresivamente después de unos diez días. A este cuadro le sigue la reacción eritematosa principal, que llega al máximo después de unas dos semanas y dura 20 a 30 días. En caso de dosis mayores puede ir seguida de descamación seca o húmeda, o incluso de necrosis. Esta

característica evolutiva (período de latencia) es probablemente la causa del subdiagnóstico de este tipo de complicaciones. El análisis topográfico y de las dimensiones de las ampollas que aparecen con dosis de 15-25 Gy es de interés para la dosimetría, así como la cronología en el desarrollo de las ampollas, que depende de la dosis recibida por la capa basal: el aumento de la dosis acorta el tiempo de su aparición (Cascon, 2010).

La exposición a altas dosis de radiación ionizante puede causar quemaduras de la piel, caída del cabello, náuseas, enfermedades y la muerte. Los efectos dependerán de la cantidad de radiación ionizante recibida y la duración de la irradiación, así como factores personales: sexo, edad a la que se expuso, estado de salud y nutrición (Infante *et al.*, 2012). Cuando se realizan exposiciones en cavidad bucal es bastante baja, sin embargo, no se respetan las medidas de protección que se deben cumplir, como por ejemplo, el uso del chaleco plomado (figura 4) y el uso de dispositivos de alineación del haz (evitando repeticiones) para de esta manera evitar los efectos biológicos anteriormente mencionados.

Está demostrado que una dosis de 3 a 4 Sv (Sievert, unidad del Sistema Internacional de Medidas) produce la muerte en 50% de los casos. La irradiación de zonas concretas del cuerpo produce daños locales en los tejidos. Se lesionan los vasos sanguíneos de las zonas expuestas alterando las funciones de los órganos. Cantidades más elevadas, provocaran necrosis y gangrena. Hay ciertos factores que influyen en este tipo de lesiones, como la dosis total, la velocidad de administración de la dosis, la cantidad de tejido irradiado, la sensibilidad celular y la edad de la persona que recibe la radiación (Tirado *et al.*, 2014).

La dosis total es la cantidad de radiación recibida o la cantidad total de radiación absorbida. Las lesiones son más graves cuando el tejido absorbe mayores cantidades de radiación. La velocidad de administración de la radiación es la rapidez con la que ocurren la exposición y la absorción de las radiaciones (dosis/tiempo). Las

lesiones por radiaciones son más graves mientras mayor es la velocidad de administración de la dosis por la rapidez con que recibe la radiación por lo que no da tiempo a que se repare el daño celular (Coelho *et al.*, 2013).

La cantidad de tejido irradiado se corresponde con las áreas corporales que fueron expuestas. La irradiación de cuerpo completo produce más efectos adversos generales que cuando solo se exponen áreas pequeñas y localizadas (Fuentes *et al.*, 2015).

Cuando se hace referencia a las dosis, al nivel máximo permisible de exposición o a la dosis letal media, se referirá a la dosis suministrada al cuerpo entero (Williams *et al.*, 2011). En este sentido, nos permitimos afirmar que tampoco se debe abusar de la irradiación de pequeñas zonas como es la cavidad bucal, que además es una zona muy vascularizada y donde se encuentran glándulas muy sensibles a la radiación X como la tiroides, pues entonces se estaría evidenciando el efecto acumulativo de las mismas, que a largo plazo se manifiesta con alteraciones ya sea en la mucosa o efectos oncogénicos en la glándula anteriormente mencionada (López *et al.*, 2015; Madhavan *et al.*, 2015).

La edad es otro factor determinante de lesiones por radiaciones, pues los niños son más susceptibles al daño que los adultos por encontrarse en crecimiento (células en procesos de mitosis) (Donald *et al.*, 2013). Se plantea este tema ya que en los niños se les tienen que hacer radiografías a repetición por un inadecuado diagnóstico clínico, fundamentalmente en los servicios de ortodoncia y odontopediatría. Es por ello tan importante llegar a la discusión diagnóstica, para llegar a un criterio acertado tomando en cuenta los parámetros de utilización de radiografías de acuerdo a la edad y condiciones clínicas de cada paciente (Fuentes *et al.*, 2015).

Por otra parte, la sensibilidad celular también influye en las lesiones por radiación. Hay más daño en las células que son más sensibles a la radiación como las de la médula ósea (linfocitos) (White

et al., 2012). Se ha planteado que no todas las células y tejidos son igualmente sensibles o vulnerables a las radiaciones. Las células más activas y que crecen con mayor rapidez son mayormente radiosensibles que un tejido cualquiera. En general, el núcleo de una célula es más radiosensible que el citoplasma, de ahí que una célula con bastante citoplasma no sea tan afectada como aquella que contiene más material en el núcleo (Serrato *et al.*, 2018).

Puede aceptarse la siguiente lista de células comunes y/o tejidos, agrupados de acuerdo con un orden decreciente de radio sensibilidad (Ianucci *et al.*, 2013).

1. El tejido linfático, muy sensible, particularmente los linfocitos.
2. Células rojas jóvenes en la médula ósea.
3. Las células que revisten el canal gastrointestinal.
4. Células de las gónadas; los testículos son más sensibles que los ovarios.
5. Piel, particularmente la porción que rodea el folículo capilar.
6. Células endoteliales vasos sanguíneos y peritoneo.
7. Epitelio del hígado y adrenales.
8. Otros tejidos, incluidos el óseo, músculo y nervioso, en ese orden.

Tabla 1
Radiosensibilidad celular

CÉLULAS RADIOSENSIBLES	CÉLULAS RADIORRESISTENTES
<ul style="list-style-type: none"> • Linfocitos (+ sensibilidad) • Médula ósea (+ sensibilidad) • Cédulas reproductoras (+ sensibilidad) • Mucosa intestinal (+ sensibilidad) • Piel (++ sensibilidad) • Ojo (++ sensibilidad) • Mucosa oral (++ sensibilidad) 	<ul style="list-style-type: none"> Tejido muscular (-sensibilidad) Tejido nervioso (-sensibilidad) Hueso maduro y cartilago (-- sensibilidad) Glándulas salivales (-- sensibilidad) Glándulas tiroides (-- sensibilidad) Riñón (-- sensibilidad) Hígado (-- sensibilidad)

Fuente: los autores a partir de Whaites, 1996

Los tejidos jóvenes o en crecimiento son más sensibles a la radiación que los tejidos adultos o inactivos. Los efectos de las radiaciones ionizantes sobre la materia viva son el resultado final de las interacciones físicas, ya sea por ionización o excitación de los fotones o partículas con los átomos que la componen y pasan por etapas sucesivas (Levêque *et al.*, 2013).

La acción directa de la radiación es consecuencia de ionizaciones que se producen en los átomos que forman la molécula del ácido desoxirribonucleico (ADN), fenómeno dominante en radiaciones con alta transferencia lineal de energía (LET) como las partículas alfa, beta y protones, que inciden directamente sobre los átomos de las moléculas. La acción indirecta de la radiación es la interacción del haz de radiación con otros átomos y moléculas de la célula como el agua, lo que produce radicales libres que al llegar a la molécula de ADN la dañan de manera indirecta (Hidalgo, 2013).

La interacción de los radicales libres resultantes del hidrolisis del agua (peróxido de hidrogeno), origina una serie de reacciones químicas con moléculas de solutos presentes en el medio irradiado y que producirán la inducción de un cierto grado de lesión biológica, comprometiendo su estabilidad (Rout *et al.*, 2012).

La acción de la radiación en la célula no se presenta únicamente en el ADN, pues también pueden afectarse las moléculas de ácido ribonucleico (ARN) y las proteínas, provocando una alteración de las moléculas por rotura de enlaces. Si la acción de los radicales libres es sobre el ADN, los efectos son mayores ya que se produce roturas de la cadena y la alteración o destrucción de las bases o azúcares (Williams *et al.*, 2011).

Se puede presentar daños en los cromosomas, ya que sufren importantes cambios estructurales por acción de la radiación, ya sea directa o indirecta, provocando la rotura de los mismos y forman dos o más fragmentos que pueden volver a unirse y repararse totalmente o pueden unirse con otros fragmentos mutilados y dar origen

a nuevos cromosomas distintos de los normales provocando mutaciones (Romm *et al.*, 2011).

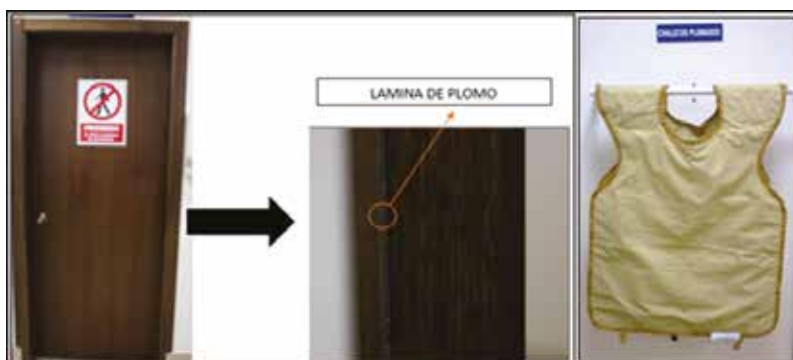
La radiación utilizada en imagenología oral y maxilofacial convencional es muy baja, si se compara con la utilizada en otras áreas de la medicina como la tomografía computarizada helicoidal. No hay un estudio clínico que demuestre una asociación entre las bajas dosis de radiación utilizadas en diagnóstico oral y mutaciones genéticas u otros daños en el paciente o el operador, como tampoco se puede asegurar que sean totalmente inofensivas. La dosis que recibe la tiroides en un examen periapical completo es aproximadamente 0,94 mGy, cercana a la necesaria para que se produzca un daño genético (1,0 mGy) y que corresponde a 0,03% de la exposición del medio ambiente en un año (Avalos *et al.*, 2018).

En una investigación realizada con el fin de determinar si la exposición crónica a rayos X durante la práctica clínica diagnóstica, que realizan los estudiantes de odontología como parte de su formación académica, produce daño genético, se concluyó que la dosis recibida y el tiempo de exposición a los rayos X tienen un efecto citotóxico en células de la mucosa bucal y producen un daño mínimo al ADN en células de sangre periférica (Franco *et al.*, 2010). La exposición a rayos X durante la radiografía panorámica en pacientes adultos y en niños induce efectos genotóxicos en células gingiviales, incrementando el daño cromosómico y la muerte celular (Madhavn *et al.*, 2012). Por consiguiente, las ortopantomografías deberían ser solicitadas de acuerdo a criterios de prescripción, los mismos que han sido previamente establecidos por la Federación Dental Americana (FDA), ya que este procedimiento no puede ser considerado como de bajo o de ningún riesgo.

En el caso de las embarazadas, para que una dosis de radiación tenga efectos negativos en el feto es necesario que supere los 10 rads y en cada radiografía dental el embrión solo está expuesto a 0,00001 rad, por lo que los riesgos para el bebé son mínimos o nulos (Fernández *et al.*, 2010). En una investigación realizada en México

concluyeron que el personal odontológico está expuesto a una dosis mínima de radiación, siempre y cuando se utilicen las barreras de protección (figura 6). De esta forma no existe riesgo alguno, ya que para llegar a una dosis alta de 1 Gy se tendrían que realizar un total de 1 142 exposiciones radiográficas dentoalveolares, 1 111 oclusales y 400 series radiográficas en un solo día (Aquino *et al.*, 2010).

Figura 6
A: puerta con lámina de plomo, B: chaleco plomado



Fuente: los autores

Hoy en día se puede evidenciar la sustitución de la radiología convencional por la radiología digital, lo que permitirá obtener mejores resultados, gracias al avance de los microprocesadores que utilizan los ordenadores, a la vez que se conseguirá disminuir en gran medida el impacto que tiene sobre los pacientes la radiación ionizante ya que se disminuye considerablemente la dosis administrada a los pacientes.

Dosimetría, importancia y límites

Con el fin de proteger a los pacientes contra los efectos nocivos de las RI sin detrimento de los beneficios asociados con su aplicación en los distintos ámbitos de la salud donde son muy utilizadas, es pre-

ponderante la radio protección, la cual tiene como objetivo impedir la aparición de efectos determinísticos en pacientes y en operadores, y disminuir tanto como sea posible la ocurrencia de efectos secundarios. La radio protección se funda sobre tres principios básicos: la justificación, la optimización y la limitación de las dosis. La protección radiológica del paciente se sustenta en los dos primeros principios. La justificación de una práctica diagnóstica se fundamenta en que la información esperada a partir de ella contribuirá a confirmar un diagnóstico u orientar la estrategia terapéutica. Además, debe ser superior a la que aportaría otra técnica alternativa que involucre dosis menores o que no implique exposición a RI. A fin de reducir estos daños, las normas actuales de radio protección enfatizan el entrenamiento del personal técnico, la utilización de equipos fluoroscópicos sofisticados que reducen la dosis irradiada al paciente mientras se mantiene la calidad de la imagen y el mejoramiento de las técnicas digitales, tendientes al mantenimiento de los niveles de referencia de exposición establecidos para optimizar las operaciones y los sistemas de protección, con el fin de disminuir la exposición a la radiación (Cascon, 2009).

Con el fin de minimizar los riesgos o efectos nocivos sobre la salud del paciente es necesario conocer las dosis límites por debajo de las cuales existe la probabilidad de ocurrir algún daño mínimo. El profesional de la odontología se encuentra expuesto a dosis de radiación que llega a todos los tejidos del cuerpo, los cuales no solo con la exposición en sí a la radiación, sino también dependiendo del tiempo de exposición pudiera afectarlo, razón por la cual debe someterse a análisis las dosis estándar establecidas en la dosimetría radiológica y las dosis medidas en los dosímetros personales de los profesionales, para la estimación de las dosis con la cual se trabaja.

La dosimetría se define como el control del nivel de exposición a las RI que se debe efectuar a toda persona que trabaje con fuentes radiactivas abiertas o sellada o equipos emisores de RI, a objeto de evitar daño a su salud. La función del dosímetro profesional es detectar las emanaciones de RI de los equipos de radiodiagnósti-

co o fuentes radiactivas (figura 7), su principal objetivo es integrar las dosis de radiación recibidas por el profesional ocupacionalmente expuesto a dicho agente de riesgo, durante un determinado periodo (Castro Maya *et al.*, 2018).

Figura 7
Dosímetro personal



Fuente: los autores

Cuando la radiación alcanza un material, cede su energía (o parte de ella) a cada elemento de volumen del material que atraviesa. La cantidad de energía cedida por unidad de masa de material se denomina *kerma* (Kinetic Energy Released in Material). A fin de limitar las dosis y manejar el riesgo, es necesario cuantificar la cantidad de energía que recibe un tejido o un órgano del cuerpo humano, para lo cual utilizamos algunas medidas de dosis:

1. *Dosis absorbida*. También llamada dosis material (D-material) o dosis exposición, es la energía de RI absorbida por unidad de masa de materia irradiada en un punto específico. Su unidad de medida es el Gy. La dosis absorbida no tiene en cuenta el tipo de RI ni la sensibilidad de expuesto. Es usual tener diferentes valores de dosis absorbida sobre el tejido irradiado durante un procedimiento y esto se debe al reposicionamiento del haz de rayos X, la distancia variable entre el punto focal del tubo de rayos X y el tejido, así como a la variación del espesor del paciente, lo que causa cambios en el voltaje del tubo de rayos X y la corriente (Badel *et al.*, 2017).

2. *Dosis equivalente*. En algunos casos se utiliza indistintamente y expresa la dosis absorbida teniendo en cuenta el tipo de radiación (dado que no todos los tipos de radiaciones producen el mismo efecto) y su energía. Considerando esta diferencia, se puede utilizar un factor de ponderación basado en el tipo de radiación utilizada. Por ejemplo, en el caso de los rayos X, en los que se considera igual a 1, la unidad es el sievert (Sv), en cuyo caso Sv es igual a Gy (Cascon, 2009; Badel *et al.*, 2017).

3. *Dosis efectiva*. Los tejidos tienen grados variables de radio sensibilidad. Por ejemplo, mama, médula ósea y colon son más radio sensible que la superficie ósea, el cerebro y la piel. La dosis efectiva es la suma promedio de la radiación recibida de todos los tejidos expuestos y tiene en cuenta para su cálculo la radio sensibilidad de cada tejido. Su valor se obtiene al multiplicar la dosis absorbida por un valor de ponderación (w_T) previamente definido para cada tejido expuesto. Se expresa en milisieverts (mSv) y es útil para comparar la

cantidad de radiación recibida por diferentes tipos de procedimientos, pero no es una medida útil de riesgo individual de radiación del paciente expuesto (Badel *et al.*, 2017).

Tabla 2
Resumen de cantidades y unidades de radiación

Cantidad	Unidad del SI	Unidad tradicional	Conversión
Exposición	Culombio por kilogramo (C/kg)	Roentgen (R)	1 C/kg = 3,876 R
			1 R = 2,58x10 ⁴ C/kg
Kerma	Gray (Gy)	—	1 Gy = 100 rad
Dosis absorbida	Gray (Gy)	Rad	1 rad = 0,01 Gy (1 cGy)
Dosis equivalente	Sievert (Sv)	Rem	1 Sv = 100 rem
Dosis efectiva (E)	Sievert (Sv)	—	1 rem = 0,01 Sv (1 cSv)
Radioactividad	Becquerelio (Bq)	Curie (Ci)	1 Bq = 2,7x10 ⁻¹¹ Ci
			1 Ci = 3,7x10 ¹⁰ Bq

Fuente: los autores a partir de White y Pharoah, 2004

Cuando un paciente es sometido a una intervención radiológica, la magnitud que se toman en cuenta se relaciona con la dosis que recibe en la piel en el punto de entrada o ESD (Entrance Skin Dose). La dosis de entrada en la piel se define como la dosis absorbida en el centro del campo en la superficie de entrada de la radiación al paciente y se mide en Gy o mGy (1 Gy = 1 000 mGy). En el caso del personal operador se miden las dosis recibidas en los ojos (opcional), los dedos de las manos, debajo del delantal de protección y en el cuello (opcional). Las dosis se miden de forma directa con dosímetros convencionales de termoluminiscencia (TLD), dado que por su tamaño pueden colocarse donde se desee medir (en especial en la zona de incidencia del haz) y no interfieren con el procedimiento (Cascon, 2010).

Límites de las dosis

La dosimetría corresponde a la determinación de la cantidad de energía de radiación impartida a los tejidos (White, 2004). La optimización implica que las exposiciones deben mantener el nivel de radiación lo más bajo posible, siguiendo el principio de ALARA (As Low As Reasonably Achievable). La protección radiológica se optimiza cuando las exposiciones emplean la menor dosis posible de radiación, sin que eso implique la pérdida de la calidad de la imagen (Soffia *et al.*, 2013).

Para controlar los riesgos de la exposición a las radiaciones se han establecido los siguientes límites a la dosis para todo el cuerpo, recibidos por los trabajadores expuestos y la sociedad en general (Cascon *et al.*, 2010):

- Límite para trabajadores expuestos: 20 mSv/año (promediado en un período de 5 años).
- Límite para el público: 1 mSv/año.

La dosis promedio anual en las personas debida a radiación ambiental (fuentes naturales) es de 2,4 mSv (Vásquez *et al.*, 2019). Los límites de dosis para el personal operador no se deben superar en ninguna circunstancia. El límite de dosis anual para el personal clasificado es 150 mSv en los ojos y de 500 mSv en la piel. Si bien no existen valores límite de dosis para los pacientes, todas las exposiciones deben cumplir con el principio ALARA. Se aconsejan niveles de referencia para cada tipo de procedimiento (Cascon, 2010).

Tabla 3
Dosis de absorción de radiación según técnicas

Examen	NRD
Intraoral (molar, adulto)	1,7 m * Gy ²
Ortopantomografía (adulto)	93 mGy * cm ²

Ortopantomografía (niño)	67 mGy * cm ²
Radiografía lateral de cráneo (adulto)	40 mGy * cm ²
Radiografía lateral de cráneo (niño)	25 mGy * cm ²
CBCT (implante en primer molar superior, adulto)	250 mGy * cm ²

Fuente: los autores a partir de Aquino et al., 2010

Principios de protección radiológica

Considerando los potenciales riesgos de la exposición a radiaciones ionizante, las dosis debieran ser lo más bajas posibles, pero manteniendo a la vez una adecuada calidad diagnóstica (European Commission Radiation Protection n° 172, 2012). La Comisión Internacional de Protección Radiológica ha formulado tres principios fundamentales de protección radiológica:

1. *Principio de justificación.* Que implica producir más beneficio que daño al paciente. Este principio involucra la determinación de la necesidad de un examen con radiaciones ionizantes, tanto a nivel general como particular, para cada caso clínico (Hidalgo *et al.*, 2013). Por ejemplo, la radiografía *bite-wing* se indica para detectar caries interproximales, pero no estarían indicadas en pacientes con contactos proximales abiertos posteriores. En Ecuador, ante la ausencia de una norma, tanto el clínico como el radiólogo serían responsables de la justificación de los exámenes radiológicos, por lo que la comunicación entre el clínico derivante y el radiólogo es importante.

2. *Principio de optimización.* Conocido como ALARA, involucra la obtención de imágenes de calidad diagnóstica con las dosis de radiación más bajas posibles. Varios factores influyen en las dosis, algunos de los que pueden ser modificados por el operador en ciertos equipos. Otros equipos no permiten su modificación, por lo que se debe seleccionar el equipo que mejor se ajuste a las necesidades de cada clínica al momento de su compra. Incluso un 10% de reducción de dosis se ha considerado como clínicamente relevante (Hidalgo, 2010).

3. *Principio de limitación de dosis.* Está focalizado en la exposición ocupacional y al público. Este principio determina un máximo de dosis para un periodo de tiempo. Este principio no aplica a los pacientes ya que en ciertos casos podría limitar el diagnóstico o reducir la efectividad del tratamiento propuesto. Sin embargo, una apropiada justificación y optimización contribuyen a la limitación de dosis (Hidalgo *et al.*, 2013).

Conclusiones

El uso de la radiología diagnóstica es frecuente en la práctica odontológica, y aporta información esencial para determinar un diagnóstico y el tratamiento de elección de un caso clínico, más, sin embargo, se debe estar consciente de los efectos negativos en el cuerpo humano del paciente y el profesional, por lo cual debe ser utilizada de manera racional.

Bibliografía

- Aquino, M., Avilés, P., Romero, M., Bojorge, J. y Ramírez, P. (2010). Cuantificación de la dosis absorbida por medio de dosimetría termoluminiscente en radiología dental. *Revista Odontológica Mexicana*, 14(4), 231-236.
- Avalos, P. *et al.* (octubre-diciembre, 2018). Cuantificación de la radiación secundaria durante la exposición a ortopantomografías digitales. *Revista Odontológica Mexicana*. 22(4), 197-205.
- Badel, A., Rico Mesa, J., Gaviri, M., Arango Isaza, D., *et al.* (2018). Radiación ionizante: revisión de tema y recomendaciones para la práctica. *Rev Colomb Cardiol.*, 25(3), 222-229.
- Busch, U. W. (2016). Conrad Roentgen: el descubrimiento de los rayos x y la creación de una nueva profesión médica. *Rev Argent Radiol*, 80(4), 298-307.
- Cascón A. (marzo-abril, 2009). Riesgos asociados con las radiaciones ionizantes. *Revista Argentina de Cardiología*, 77(2).
- Castro Maya, M., Millán Vélez, C., Orozco Victoria, O., Sánchez Alzate, M., Valencia Quiñonez, D., *et al.* (2018). Relación entre los valores de Dosimetría del profesional expuesto durante cinco años a Radiación

- Ionizante de un centro de hemodinamia de la ciudad de Pereira, con la condición del Cristalino: Colombia, 2018. *Areandina*, (11).
- Coelho, D., Cuzzuo, A., Carlin, V., Araki, D. y Franzotti, E. (2013). Mutagenicity and cytotoxicity in patients submitted to ionizing radiation. *The Angle Orthodontist*, 83(1), 104-109.
- Curso Básico de Protección Radiológica*. (2012). Ministerio de Electricidad y Energía Renovable del Ecuador.
- Dávalos Villca, M. (2013). Historia de la radiología. *Revista de Actualización Clínica*, 37, 1787-1792.
- Donald, P. (2013). Riesgos de la radiación imaginológica en niños. *Rev. Med. Clin. Condes.*, 24(1), 21-26.
- European Commission. (2012). *Radiation protection n° 172: Cone beam CT for dental and maxillofacial radiology. Evidence based guidelines*.
- Franco, D. (2010). *Evaluación genotóxica por el test de micronúcleos y el ensayo del cometa en estudiantes de odontología expuestos a rayos X durante las radiografías dentarias* (Tesis de doctorado). Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción.
- Fuentes, L., Torres, S. y Valencia, V. (2015). Efectos biológicos de los rayos X en la práctica de estomatología. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 14(3), 337-347.
- Gómez, H. y Pico Melo, J. (2013). Radiaciones ionizantes, efectos biológicos y realidad legislativa colombiana del personal ocupacionalmente expuesto. *Salud Areandina*, 1(2), 92-104.
- Hidalgo, A., Theodorakou, Ch. y Horner, K. (2013). Protección radiológica en tomografía computarizada. Cone-Beam en odontología. *Anu. Soc. Radiol. Oral Máxilo Facial de Chile*, 16, 23-32.
- Ianucci, J. y Jansen, L. (2013). *Radiología dental principios y técnicas*. AMOLCA.
- Infante, A., Reyes, R., González, D., Garbey O, Prades E. (2012). Control de calidad en radiodiagnóstico convencional. Memorias Convención Internacional de Salud Pública. La Habana, Cuba.
- Levêque, P., Desmet, C., Dos Santos-Goncalvez, A. *et al.* (2013). Influence of Free Radicals Signal from Dental Resins on the Radio-Induced Signal in Teeth in EPR Retrospective Dosimetry. *Aegerter CM*, 8(5), 62225.
- Madhavn, R., Kumaraswamy, M. y Kumar, S. (abril-junio, 2012). Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X- rays after Panoramic Radiograph. *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*. 2(24), 102-105.

- Méndez, A. y Maldonado, J. (2014). Trastornos hematopoyéticos en trabajadores expuestos a radiaciones ionizantes. *Medicina y Seguridad en el Trabajo*. 60(234), 143-160.
- Muñoz, V. (2009). Riesgo para la salud por radiaciones no ionizantes de las redes de energía eléctrica en el Perú. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.*, 26(1), 104-112.
- Nejaim, Y., Vasconcelos, K., Roque-Torres, G., Meneses-López A., Bóscolo, F. y Haiter- Neto, F. (2015). Racionalización de la dosis de radiación. *Rev Estomatol Herediana*. 25(3), 238-245.
- Ramírez, M., Rodríguez, D. y Rojas, M. (2018). Tomografía *cone beam* como herramienta diagnóstica en alteraciones de la articulación temporomandibular. *Revista Killkana Salud y Bienestar*. 2(1), 37-44.
- Ramos, N. y Villarreal, U. (2013). Disminución de la dosis de radiación en el radiodiagnóstico. *Rev. Chil. Radiol.*, 19(1), 5-11.
- Romm, H., Wilkins, R., Coleman, C., Lillis-Hearne, P., Pellmar, T., Livingston, G., Awa, A., Jenkins, M., Yoshida, M., Oestreicher, U. y Prasanna, P. (2011). Biological Dosimetry by the Triage Dicentric Chromosome Assay: Potential Implications for Treatment of Acute Radiation Syndrome in Radiological Mass Casualties. *Radiation Research Society*, 175(3), 397-404.
- Rout, W., Dong, R., Nicolalde, R., Matthews, T. y Gladstone, D. (2012). Physically-based biodosimetry using in vivo EPR of teeth in patients undergoing total body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 87, 766-775.
- Salazar, A. y Cuervo, D. (2012). Protocolo de ensayos de emisiones radiadas en equipos médicos: caso de estudio de equipos de telemedicina. *Rev. Fac. Ing. Univ*, 65, 33-45.
- Serrato, D., Nieto, R. y Aguilera, A. (2018). Efectos negativos de la radiación ionizante empleada en diagnóstico odontológico. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (74), 81-87; 2018.
- Sierra, B. (2011). *Evaluación del efecto genotóxico de la radiación ionizante en médicos ortopedistas expuestos laboralmente, en cuatro instituciones de salud en Bogotá, Colombia* (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia.
- Soffia, P., et al. (2017). Radioprotección al día en radiología diagnóstica. *Rev. Chil. Radiol.*, 23(1), 15-19.
- Tirado-Amador, L., González-Martínez, F. y Sir-Mendoza, F. (2015). Uso controlado de los rayos X en la práctica odontológica. *Revista Ciencias de la Salud*. 13(1), 99-112.

- Ubeda, C., Nocetti, D. y Aragón, M. (2018). Seguridad y Protección Radiológica en Procedimientos Imagenológicos Dentales. *Int. J. Odontostomat*, 12(3), 246-251.
- Vásquez, S. y Villacís, W. (2019). Implementación de un Programa de Protección Radiológica en laboratorios que utilizan equipos y fuentes emisoras de radiación ionizante y en el Servicio de Radiodiagnóstico Odontológico de la Escuela Politécnica Nacional. *Revista Politécnica*, 43(1).
- Whaites, E. (1996). *Essential of dental Radiography and Radiology*. EUA: Mosby.
- White, S. y Pharoah, M. (2004). *Oral Radiology: Principles and Interpretation*. Mosby: St Louis.
- Williams, B., Dong, R., Nicolalde, R., Matthews, T., Gladstone, D. *et al.* (2011). Physicallybased biodosimetry using in vivo EPR of teeth in patients undergoing total body irradiation. *Int J Radiat Biol.*, 87, 766-775.

Uso de desechos orgánicos provenientes del sector bananero de la ciudad de Machala para la obtención de biocombustibles

Jorge Amaya P.*

Introducción

Actualmente las fibras naturales se han convertido en una fuente importante para mitigar el daño ecológico que se ha dado en las últimas décadas, ya sea en la elaboración de nuevos materiales —puesto que ayudan a la resistencia mecánica del material— o en la obtención de biocombustible (Tapia Clotario *et al.*, 2006). Esta fuente llamada lignocelulósico es muy usada en la industria, entre ellas la maderera, ya que es un recurso que conlleva ventajas para el medio ambiente y por tanto para su sostenibilidad, debido a su degradabilidad, aportando a la mitigación de impactos ambientales (Simbaña y Mera, 2010).

Dentro de las fuentes en las que se encuentran biomásas lignocelulósicas están las plantas, en las que se encuentra como un componente de la pared celular. Estas biomásas son las más prometedoras en aportar y solucionar los problemas energéticos (Ál-

* Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador, sede Cuenca

varez-Castillo *et al.*, 2012). Hay que considerar que los combustibles de recursos fósiles son usados como fuente principal de energía, ocasionando problemas ambientales significativos que van desde la explotación de recursos naturales hasta la contaminación atmosférica, debido a las emanaciones de gases (Arellano Perales, 2015). Sin embargo, la demanda de consumo de los combustibles fósiles se verá incrementada considerablemente en los próximos años y por lo tanto también aumentarán los impactos ambientales generados por estos combustibles. Por este motivo la humanidad se ha visto en la necesidad de obtener nuevas alternativas de biocombustibles que mitiguen las problemáticas ambientales. Dentro de estas alternativas está el uso de biomasa lignocelulósicas, obteniendo el bioetanol, el cual posibilita dosificar con combustibles de procedencia fósil sin afectar al rendimiento del motor (Abril, 2010).

Los componentes que contiene la biomasa lignocelulósicos son principalmente polisacáridos divididos en: celulosa (que representa hasta un 50% en peso de la biomasa), lignina (con un contenido que oscila entre 25% al 34% en peso) y la hemicelulosa (que son polisacáridos heterogéneos con una variación que va desde el 30% hasta el 40%). Estas cantidades son dependientes del tipo de biomasa (Pepijn Prinsen, 2010). Los residuos agroindustriales son aquellos que contienen una mayor cantidad de material lignoceluloso y son aquellos derivados de la caña de azúcar, café, maíz, arroz, banano (*raquies*), cacao, coco, y plátano. Uno de los residuos en potencial estudio son los *raquies* de banano (pseudotallo), debido a la fácil accesibilidad a estos residuos, además de que son biomasa que contienen una considerable masa de sus componentes que posibilita la obtención de bioetanol (Marín, 2012).

La tecnología para la obtención de bioetanol proveniente de biomasa lignocelulósicas requiere procesos previos de hidrólisis ácida, alcalina y enzimática, con el objeto de modificar la estructura química de dicha la biomasa y obtener componentes de fácil conversión de los hidratos de carbono en azúcares fermentables (López *et al.*,

2013). Cabe recalcar que la adición del bioetanol —obtenido a partir de desechos agroindustriales— con la gasolina permite aumentar la compresión del motor, dando un funcionamiento más regular, y además se puede usar a mayores rpm (Pérez y Colorado, 2006).

En el presente trabajo de investigación se desarrolla nuevas metodologías para la extracción de los componentes de la biomasa lignocelulósica mediante hidrólisis ácida con el objetivo de obtener azúcares fermentables para la obtención de bioetanol aplicando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Materiales y métodos

El desarrollo de esta investigación se realizó utilizando métodos experimentales, en los distintos procesos y pruebas, bajo algunos términos del investigador, con la finalidad de obtener los mejores resultados.

La investigación parte con la recolección de los *raquies* del banano (figura 1) en la hacienda bananera La Primavera, ubicada en la ciudad de Machala, provincia de El Oro. Hay que recalcar que estos *raquies* fueron cortados y posteriormente lavados con agua caliente para retirar las impurezas.

Para la obtención del biocombustible, la investigación se dividió en varias etapas: pretratamiento de los *raquies*, tratamiento ácido y alcalino de los mismos, conversión a glucosa, fermentación y destilación. Además, se realizó un análisis proximal químico, el cual nos indicará cuales son las condiciones con las que se obtuvo el producto deseado.

Figura 1
Raquies o pseudotallos de la planta de banano



Fuente: el autor

Pretratamiento de los raquis

El proceso se inició con el corte de los *raquis* hasta disminuir su tamaño en un aproximado de 1 cm de ancho y 4 cm de largo con el objetivo de facilitar la molienda, luego fueron colocados en una estufa Memmert a 37° C durante tres días, hasta obtener un valor de humedad de 7%. Finalmente se trituraron en una licuadora industrial hasta tener una granulometría menor a la inicial, para luego realizar el proceso de tamizado. Hay que recalcar que el índice granulométrico es de vital importancia debido a que cuando se tiene un tamaño de partícula demasiado pequeño la extracción de la celulosa se dificulta durante el proceso de filtración.

Análisis proximal químico

Este análisis se realizó con el objetivo de conocer cuál es el comportamiento de la fibra bajo distintos parámetros, los cuales nos ayudarán a tener una conclusión clara durante el proceso de extracción del bioetanol. En el presente análisis se realizaron pruebas como: determinación del contenido de humedad, granulometría de la fibra, porcentaje de cenizas, solubilidad en agua caliente y en agua fría, solubilidad en hidróxido de sodio.

1. *Determinación del contenido de humedad.* Para determinar el porcentaje de humedad se realizó tres pruebas, cada una de 2 g aproximadamente, a una misma temperatura. Específicamente se siguió el procedimiento de halógenos de humedad. Para calcular el porcentaje de humedad utilizamos la siguiente fórmula en las tres muestras:

$$\%H = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \times 100$$

Ecuación 1

Donde A = peso del crisol seco, B = peso del crisol + muestra húmeda, C = peso del crisol más muestra seca y H = humedad.

2. *Granulometría de la fibra.* Se realizó el análisis granulométrico a una muestra de 130 gramos de fibra en una criba vibratoria (serie de tamices). Haciendo pasar la muestra por 7 mallas de diferentes diámetros (#5, #8, #10, #14, #16, #18, y #20) durante 30 minutos, posteriormente se determinó en que malla se retuvo más fibra. Esta metodología se realizó según la norma ASTM D1921 “Standard Test Methods for Particle Size (Sieve Analysis) of Plastic Materials”.

3. *Determinación del porcentaje de cenizas.* Este análisis del porcentaje de cenizas que contiene la fibra se realizó en una mufla a 600°C por 2.5 horas. Se aplicó a tres muestras de 1 gramo cada una, todas bajo las mismas condiciones, y posteriormente se aplicó la siguiente formula:

$$\%Cenizas = \frac{(P1 - P2)}{(P - P2)} \times 100$$

Ecuación 2

Donde P es el peso en gramos del crisol con la muestra, P1 es el peso en gramos del crisol con las cenizas y P2 es el peso en gramos del crisol.

4. *Determinación de la solubilidad en agua a temperatura ambiente (CRA).* Se realizaron tres ensayos de dos gramos cada muestra, para posteriormente obtener un promedio de todas ellas. Se colocó dos gramos de la muestra en un tubo de 50 ml a la cual se agregó agua a una temperatura de 23° C y se dejó reposar el contenido por 24 horas, al cabo de este tiempo se determinó el contenido retenido de agua por diferencia de pesos.

$$CRA = peso\ final - peso\ inicial$$

Ecuación 3

5. *Determinación de la solubilidad en hidróxido de sodio.* Se tomó dos gramos de muestra previamente tamizada en una malla #14 y se colocó la muestra en el Erlenmeyer de 125 ml, se le agregó 100 ml de NaOH al 1%, posteriormente se colocó en baño maría

por 25 minutos a una temperatura de 30° C, agitando vigorosamente cada 10 minutos; se dejó enfriar por una hora y se filtró, luego se lavó el residuo sucesivamente con 50 ml de agua caliente y 50ml de ácido acético, y se secó la muestra a 100° C hasta obtener un peso constante. Este análisis se aplicó en tres muestras de 2 g cada una.

$$\% \text{Solubilidad en NaOH} = \frac{MIC - MFC}{\text{masa de la muestra} (1 - H)} \times 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde MIC es la masa inicial del crisol, corresponde al peso del crisol vacío, MFC es la masa final del crisol que corresponde al peso del crisol con la muestra seca y H es la humedad.

6. *Determinación de la solubilidad en agua caliente.* Se tomó dos gramos de la muestra previamente tamizada en una malla #14, se colocó la muestra en un matraz adicionando 100 ml de agua destilada y se lo llevo a un baño de agua en ebullición por 3 horas a una temperatura de 30° C; posteriormente se filtró el contenido y se lavó el residuo con agua caliente para luego dejar a 100° C hasta peso constante. Este procedimiento se realizó en tres muestras con un peso de 2 g cada una.

$$\% \text{Solubilidad en agua caliente} = \frac{MIC - MFC}{\text{masa de la muestra} (1 - H)} \times 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde MIC es la masa inicial del crisol, corresponde al peso del crisol vacío, MFC es la masa final del crisol, corresponde al peso del crisol con la muestra seca y H es la humedad.

Determinación porcentual de los componentes de la fibra de banano

1. *Determinación del porcentaje de celulosa.* Para la cuantificación del porcentaje de celulosa en la fibra de banano se trabajó siguiendo la metodología explicada por Jiménez-Muñoz (2017) con algunas modificaciones. Esta consiste en tratar dos gramos de fibra,

con 25 ml de NaOH al 20%, se lo agita y deja reposar por treinta minutos en “baño maría” a una temperatura de 40° C. Luego se agrega 30 ml de agua destilada, se agita y se deja reposar por una hora. Posteriormente se filtra lavando con agua destilada. Luego del filtrado se agrega una solución de ácido acético al 10% en caliente, con agitación durante una hora. Luego se lava la muestra con 50 ml de agua destilada aplicando vacío, para luego secar la parte sólida durante 48 horas a una temperatura de 70° C. El porcentaje de celulosa contenida en la fibra de banano se determinó mediante la ecuación 6.

$$\%Celulosa = \frac{P_1}{P_o} \times 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

En la ecuación 6, P1 es el peso seco del filtrado y Po es el peso anhidrido de la muestra.

2. *Determinación del porcentaje de lignina en la fibra de banana.* En este análisis de cuantificación de la lignina se trabajó según lo citado por Ramos *et al.* (2015), con algunas modificaciones. Se tomó dos gramos de muestra, se agregaron 20 ml de H₂SO₄ al 70% a la temperatura ambiente con agitación vigorosa durante cinco minutos, para luego dejar reposar por dos horas con agitación frecuente a una temperatura de 30° C. En la mezcla resultante se diluyó la concentración del ácido al 3% adicionando 560 ml de agua destilada, la mezcla se llevó a ebullición durante cuatro horas y se dejó enfriar para posteriormente filtrar al vacío, lavando con agua destilada caliente hasta obtener un pH entre 6 y 7. Finalmente, el contenido del papel filtro se secó en una estufa a 100° C hasta tener un peso constante. El porcentaje de lignina contenida en la fibra de banano se determinó mediante la ecuación 7.

$$\%Lignina = \frac{A-B}{c} \times 100 \quad \text{Ecuación 7}$$

En la ecuación 7, A es el peso del papel filtro con la muestra húmeda, B es el peso del papel filtro con la muestra seca y C es el peso de la muestra seca.

Extracción de la celulosa

Para la obtención de la celulosa de la fibra de los raquies de banano, se procedió a realizar dos hidrolisis consecutivas, básica y ácida, con el objetivo de poder romper totalmente los enlaces que unen a la celulosa con la lignina y la hemicelulosa, llamada también enlaces lignocelulósicos.

1. *Hidrolisis básica.* En este proceso se tomó alrededor de 300 g de fibra de los *raquies* de banano y se le agregó hidróxido de sodio (NaOH) al 15% en peso. Se sometió a la solución a hervor durante dos horas con agitación, donde se pudo observar que se obtuvo el “licor negro” que no es más que la separación de la celulosa de la lignina.

2. *Hidrolisis ácida.* Esta hidrólisis se realizó con el objetivo de extraer todos los componentes aún no removidos en el proceso anterior. Para ello se filtró con agua destilada la hidrolisis anterior hasta tener un pH alrededor de 4 y posteriormente se añadió ácido sulfúrico en una concentración del 10% en peso durante una hora a ebullición. Seguidamente, se filtró con agua destilada y se añadió carbonato de calcio para regularizar el pH a 6. Se secó el residuo en una estufa a 110° C durante 24 horas.

Para corroborar que la metodología propuesta fue efectiva, el resultado se analizó en un espectro infrarrojo FTIR, que es una técnica de medición que ayuda a registrar los espectros infrarrojos, mediante el uso de un interferómetro se guía a la luz a través de este y posterior sobre la muestra. En este ensayo se usó un espectro infrarrojo en una longitud de onda de 400 a 4 000 cm^{-1} . Posteriormente, se calculó el rendimiento aplicando la ecuación 8 explicada por Escalante y Fuentes (2013).

$$\text{Rendimiento de la hidrólisis (\%)} = \frac{\text{Brix hidrólisis} \times \text{Peso de la muestra (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)} \times \% \text{ celulosa}} \times 100$$

Ecuación 8

Conversión a glucosa

Para conseguir el bioetanol es necesario convertir a la celulosa obtenida en glucosa, donde posteriormente este polisacárido será fermentado a alcohol. Existen varios métodos para dicha conversión, que se basan en una hidrólisis endógena, exógena y química; para el presente estudio se propuso una hidrólisis química. Para este procedimiento se tomó 5 gr de la celulosa obtenida de la fibra de los *raquies* de banano y se hizo reaccionar con 125 ml de ácido sulfúrico a una concentración del 80% en peso, ésta reacción se mantuvo a una temperatura de 60° C, en agitación durante una hora. Una vez cumplido este tiempo se añadió agua hasta lograr una concentración del 8% de la solución durante tres horas a una temperatura de 100° C con agitación constante. Para la verificación del proceso se realizó la prueba de Fehling, donde se pudo corroborar que la conversión de celulosa a glucosa fue efectiva y además se realizó el análisis en el espectro IR para observar la estructura obtenida. Para comprobar que el proceso de conversión de celulosa a glucosa se efectuó de una manera positiva, se usó el espectro infrarrojo en una longitud de onda de 400 a 4 000 cm⁻¹. La cuantificación se realizó utilizando el método de DNS indicado por Gil *et al.* (2006), en el cual se tomó a la glucosa como estándar. La solución madre se realizó con una concentración de 1 g/l y para ello se disolvió 0,1 g de glucosa en 90 ml de agua destilada, realizando el respectivo aforo. De esta solución madre se realizó las soluciones intermedias (patrón) para la curva de calibración, que consistió en disolver en diez soluciones, como se aprecia en la tabla 1, adicionando en cada solución el reactivo DNS (3,5: ácido dinitrosalicílico) que se preparó disolviendo 2,5 g de DNS en una solución que contiene 2,5 g de hidróxido de sodio y 0,125 g de tartrato de sodio y potasio aforado a 250 ml de agua destilada. Una vez realizada cada solución se colocó en “baño maría” a una temperatura de ebullición durante treinta minutos con el objetivo de que se realice la reacción.

Tabla 1
Curva patrón aplicando el método DNS

Solución n°	Solución patrón (ml)	Agua destilada (ml)	Solución DNS (ml)	Volumen total (ml)	Concentración (ppm)
1	0,0	2,0	4	6	0
2	0,2	1,8	4	6	66,6
3	0,4	1,6	4	6	133,3
4	0,6	1,4	4	6	200
5	0,8	1,2	4	6	266,6
6	1,0	1,0	4	6	333,3
7	1,2	0,8	4	6	400
8	1,4	0,6	4	6	466,6
9	1,6	0,4	4	6	533,3
10	1,8	0,2	4	6	600
11	2,0	0,0	4	6	633,3

Fuente: el autor

Una vez elaborada la curva se realizó la dilución de las muestras con agua destilada en una relación de 1:5, es decir, por cada ml de muestra se adicionó 4 ml de agua y se agregó 4 ml del reactivo DNS.

Tabla 2
Dilución de muestras en relación 1:5

N° de muestra	Muestra (ml)	Agua destilada (ml)	Reactivo DNS (ml)	Volumen total (ml)
M1 (1:5)	1	4	4	9
M2 (1:5)	1	4	4	9
M3 (1:5)	1	4	4	9

Fuente: el autor

Fermentación

Para las fermentaciones se empleó levadura *Saccharomyces cerevisiae* y como medio de activación de la levadura se usó 99 ml de agua peptónica y 1 g de levadura, para posteriormente ser colocada en la muestra hidrolizada. Las condiciones con que se trabajó fueron con un pH de 6 y una temperatura de 30° C por siete días en el biorreactor. Además, se controló las condiciones de los grados *brix* ya que son esenciales para la fermentación de la glucosa. Al cabo de siete días se midieron los gados *brix* de la muestra partiendo aproximadamente con 10 de grados *brix* y al cabo de los siete días se obtuvo 0,1 de grados *brix* (manteniéndose constante).

Posteriormente al proceso de fermentación se realizó la destilación alcohólica en un rota-vapor para las muestras fermentadas, con el fin de obtener alcohol para ser analizado. Seguidamente a la obtención del alcohol, se procedió a realizar la prueba de Lucas para identificar el tipo de alcohol que se obtuvo, además de las pruebas de espectroscopia infrarroja IR donde se nos da la información del alcohol obtenido.

Para el cálculo del rendimiento producido en el proceso de fermentación, se aplicó la ecuación 9 explicada por Malagón (2009).

$$\text{Rendimiento de la fermentación (\%)} = \frac{{}^{\circ}\text{Brix iniciales} - {}^{\circ}\text{Brix finales}}{{}^{\circ}\text{Brix iniciales}} * 100 \quad \text{Ecuación 9}$$

Cromatografía de gases

Para el análisis cualitativo del producto obtenido se usó la cromatografía de gases, que es una metodología analítica muy usada para la identificación de compuestos basados en la volatilización de una muestra e inyectada en una columna. Este análisis por cromatografía se basa en la separación de una mezcla considerando las características de cada sustancia como es la volatilización de cada una de ellas.

Para este trabajo se usó una columna cromatográfica TR-V1 cuyas características fueron ID: 0,25 mm x 1,4 µm de espesor de la película y con temperatura máxima de 300° C, como detector se utilizó un FID (detector ionización de llama). Las condiciones del análisis cromatográfico utilizadas para el producto obtenido fueron: temperatura del inyector 200° C, temperatura del detector 250° C, temperatura del horno 40° C, flujo de helio a una presión de 200 PSI, velocidad de la columna 1,2 ml/min, tiempo total de corrida 21 min.

Curva de calibración

Para la identificación del tipo de alcohol obtenido en este trabajo se realizó una curva de estándares para corroborar el tipo de alcohol obtenido. Se partió de una solución madre compuesta por los siguientes estándares: acetaldehído, metanol, acetona, iso-propanol, n-propanol, isobutanol, isoamilico y furfural; todos los estándares se diluyeron en etanol al 50% y esta solución madre se diluyó en concentraciones de 4, 20, 40 y 80 ppm.

Tabla 3
Estándares de la solución madre

Nombre	Concentración (mg/cc)
Acetona	23,49
Acetaldehído	7,77
Metanol	23,49
2 metyl - 1 – propanol	15,90
1 – propanol	23,88
2 – propanol	23,31
1 – butanol	24,06
3 metil - 1 – butanol	16,02
1 – pentanol	24,09
Furfural	22,90

Fuente: el autor

Metodología experimental

Se presenta a continuación el estudio del análisis proximal químico de la fibra de banano con el objetivo de conocer el comportamiento de la materia prima.

Humedad

El análisis de la humedad de la fibra se realizó por triplicado, aplicando la ecuación 1, donde se encontró un resultado de 6,66% como valor promedio (ver tabla 2). La importancia de la cantidad de humedad contenida en la fibra es de vital debido a que la cantidad de agua influye en las reacciones de hidrólisis posteriores.

Granulometría de la fibra

Se realizaron la prueba de granulometría en una sola ocasión en los tamices #2,36 mm, #2 mm, #1,40 mm, #1,18 mm, #1 mm, #850 μ m, y #710 μ m. EL tamiz que mayor cantidad retuvo fue el de #1,40 mm (tamiz #14) con una cantidad de material retino de 77,12 gr (ver tabla 2). En el presente trabajo de investigación se tomó la granulometría obtenida para las posteriores pruebas.

Determinación del porcentaje de cenizas

Esta prueba se realizó por triplicado con el objetivo de tener un valor promedio y para los cálculos se aplicó la fórmula detallada en la ecuación 2, obteniendo un resultado de 20% como valor promedio (ver tabla 2). Este valor de cenizas nos representa la cantidad de minerales presentes en la fibra en forma de macro y micro elementos.

Determinación de la solubilidad en agua a temperatura ambiente (CRA)

En la determinación de la solubilidad de agua se realizó por triplicado obteniendo un valor promedio de 6,58 % (ver tabla 2),

este valor nos indica que la fibra de banano tiene una baja capacidad de solubilidad y es debido a sus componentes contenidos en ella y por lo tanto este valor hay que tener en cuenta para los procesos de extracción de la celulosa.

Determinación de la solubilidad en hidróxido de sodio.

Utilizando la ecuación 4 se calculó la solubilidad en sosa caustica resultando un valor promedio de 22,67% (ver tabla 2). Este parámetro es de gran importancia debido a que nos ayuda a entender la facilidad de extracción de la celulosa en una hidrolisis alcalina, puesto a que mayor solubilidad en hidróxido de sodio la extracción será más factible realizarlo.

Determinación de la solubilidad en agua caliente

En lo que respecta a este parámetro se obtuvo un valor promedio de 24,08% calculando con la ecuación 5. Considerando las condiciones descritas en la metodología, este resultado nos indica que el enlace que une a los compuestos lignocelulósicos no se rompe con gran facilidad y por lo tanto la extracción de sus componentes necesitará otras condiciones que faciliten la ruptura de los enlaces.

Tabla 4
Resultados del análisis proximal químico
de la fibra de banano

Componente	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Valor promedio
Humedad	6,85%	6,55%	6,58%	6,66%
Granulometría	77,12 g	—	—	77,12 g
Cenizas	20%	20%	20%	20%
Solubilidad en agua	5,52%	8,36%	5,92%	6,58%

Solubilidad en hidróxido de sodio	25,04%	21,83%	21,14%	22,67%
Solubilidad en agua caliente	23,09%	29,09%	20,06%	24,08%

Fuente: el autor

Determinación porcentual de los componentes de la fibra de banano

De acuerdo a lo descrito en la ecuación 6 para el cálculo de la celulosa de la fibra de banano, se obtuvo un valor de 34%. Las condiciones propuestas en la técnica seguida en la extracción de la celulosa dio mejores resultados en comparación con otras técnicas revisadas (Hernao *et al.*, 2009). La cuantificación de la lignina se realizó según la ecuación 7, en donde se obtuvo un resultado de 20%, siendo un valor muy similar a lo detallado por Ramos *et al.* (2015), donde se expresa un procedimiento parecido al propuesto. El material lignocelulósico está compuesto por celulosa, lignina y hemicelulosa. En el presente trabajo no se realizó la cuantificación de la hemicelulosa, sino que se cuantificó por diferencia de su totalidad (ver tabla 2).

Tabla 5
Componentes de la fibra de banano lignocelulósico

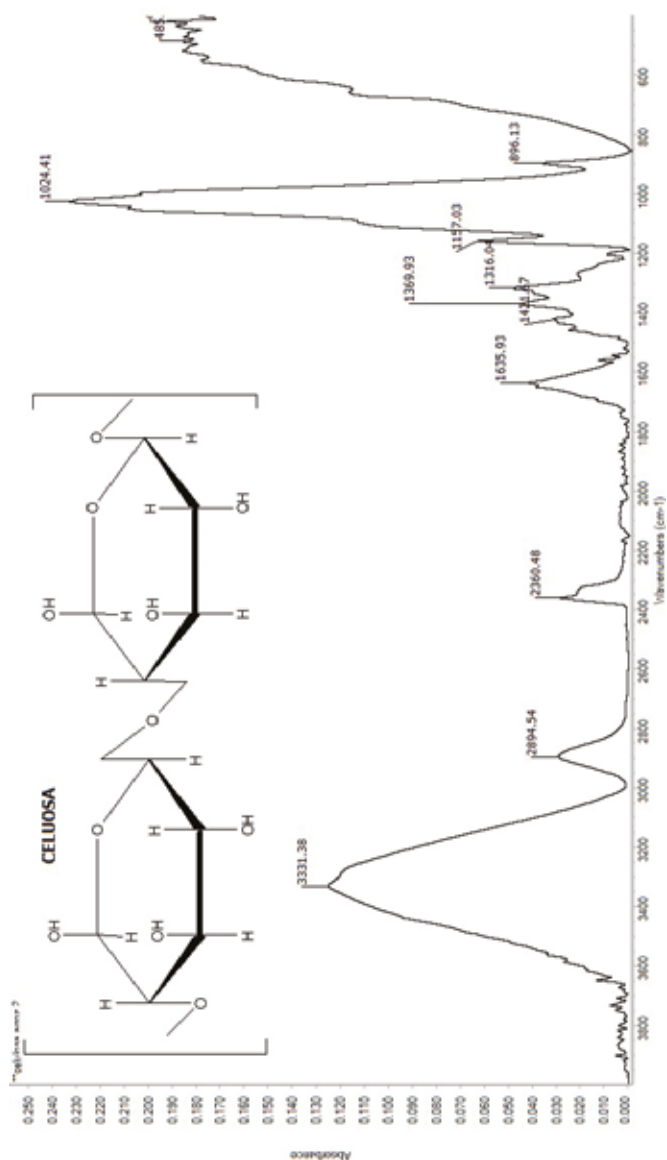
Componentes de la fibra	Porcentaje
Celulosa	34%
Lignina	20%
Hemicelulosa	46%

Fuente: el autor

Extracción de la celulosa

Con el procedimiento detallado en la metodología, se extrajo la celulosa y se procedió a verificar en el espectro infrarrojo FTIR, donde los resultados verifican que la metodología seguida ha sido efectiva.

Figura 2
Espectro FTIR de la celulosa



Fuente: el autor

En la figura 2 se muestra el espectro infrarrojo de la celulosa. El pico de $3\,331\text{ cm}^{-1}$ es atribuido a la vibración por estiramiento muy típico de los grupos OH. La señal en el pico de $2\,894\text{ cm}^{-1}$ pertenece a los enlaces C-H, debido a la vibración por estiramiento de este enlace; mientras que la señal perteneciente al pico $1\,635\text{ cm}^{-1}$ corresponde a los grupo C=O de la cetona no conjugado proveniente de la hemicelulosa y lignina (López-Martínez *et al.*, 2016). La señal correspondiente a $1\,024\text{ cm}^{-1}$ corresponde a las vibraciones por estiramiento de los enlaces C–O–C (enlace glucosídico) y el enlace O–C–O se evidencia en 896 cm^{-1} , asignándose posiblemente a los entonces C–H que corresponden a los grupos aromáticos de la lignina. El espectro FTIR (figura 2) evidencia que la metodología para la extracción propuesta ha sido efectiva.

Conversión a glucosa

La obtención de la glucosa se realizó por triplicado, según el procedimiento indicado anteriormente y realizando la identificación de la conversión a glucosa mediante la prueba de azúcares reductores de Fehling. Aquí se obtuvo una reacción positiva que no indica que hubo una conversión a un azúcar reductor (figura 3). Adicional a esto se realizó el análisis en el espectro infrarrojo FTI para verificar que la celulosa, mediante el proceso sugerido, se convirtió a glucosa (figura 4).

En la figura 6 se observa el espectro de la glucosa. Las bandas del gráfico correspondientes a $1\,169\text{ cm}^{-1}$ corresponde a las vibraciones por estiramiento de los enlaces C–O–C pertenecientes al anillo de la glucosa. La señal en $1\,043\text{ cm}^{-1}$ corresponde al enlace a las vibraciones del anillo glucosídico. La señal de $1\,633\text{ cm}^{-1}$ corresponde al estiramiento del enlace C=O. Finalmente, se observa la señal $3\,390\text{ cm}^{-1}$ propio de los grupos OH.

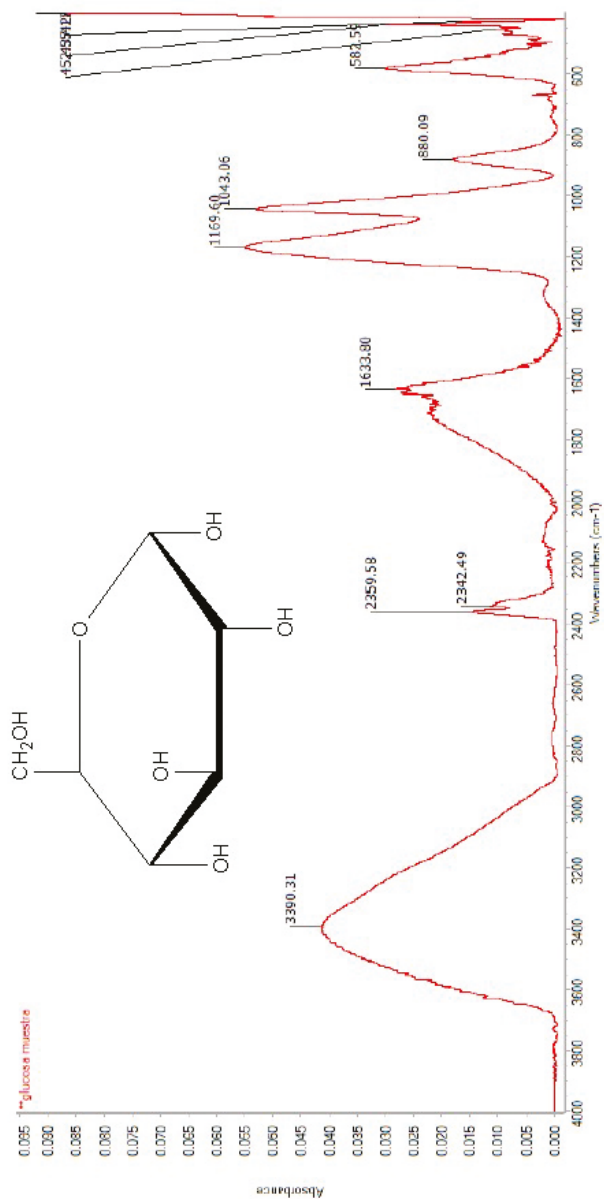
Seguidamente se cuantificó la cantidad de glucosa obtenida mediante el método de DNS por espectrofotometría UV visible y para ello se realizó una curva de calibración usando glucosa estándar.

Figura 3
Prueba de Fehling de la celulosa



Fuente: el autor

Figura 4
Espectro FTIR de la glucosa



Fuente: el autor

Cuantificación de la glucosa convertida de a celulosa

La cantidad de glucosa obtenida de la celulosa se lo midió en el espectro UV-visible, aplicando el método de Beer Lambert, que consiste en medir una muestra por medio de una curva de calibración, es decir, realizar una interpolación. Los resultados se muestran en la tabla 6, donde se aprecia la absorbancia de la cada muestra, así como su ecuación del modelo.

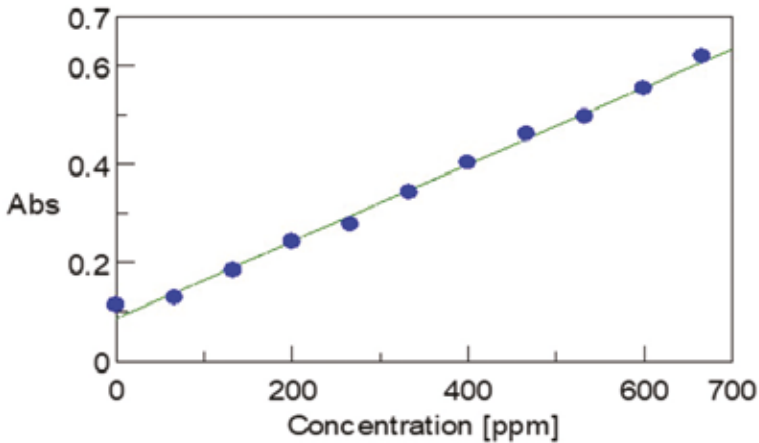
Tabla 6
Curva de calibración con glucosa de estándar

Nº de muestra	Concentración (ppm)	Absorbancia (574 nm)
0	0	0,132474
1	66,6	0,151377
2	133,3	0,190321
3	200	0,237922
4	266,6	0,322603
5	333,3	0,310648
6	400	0,432121
7	466,6	0,496829
8	533,3	0,552974
9	600	0,627262
19	666,6	0,639236

Fuente: el autor

Adicionalmente, se realizó la interpolación de las muestras obtenidas a la curva de calibración realizada, donde se observa que se obtuvo un valor promedio de 68,9 ppm de glucosa (tabla 7).

Figura 5
Curva de calibración



Fuente: el autor

Tabla 7
Concentraciones obtenidas de glucosa de cada muestra

Muestra n°	Concentración (ppm)	Absorbancia (574 nm)
M1	46,9221	0,131885
M2	65,2201	0,147238
M3	94,6598	0,171938

Fuente: el autor

Fermentación

Como se explicó en la metodología, en el proceso de fermentación se midió los grados *brix* de los mostos. La tabla 6 detalla la variación de los grados *brix* durante el tiempo estipulado. En dicha tabla se puede apreciar que existe una variación evidente de los grados *brix*, lo cual indica que existe la conversión de glucosa a alcohol.

Tabla 8
Variación de los grados brix

Muestra n°	Grados brix inicial	Grados brix final	Tiempo (días)
1	10,1	0,1	7
2	9,8	0,6	7
3	9,2	0,3	7

Fuente: el autor

Para la caracterización del alcohol obtenido se realizó, en primer lugar, un análisis de espectroscopia infrarroja (FTIR) del alcohol obtenido (figura 6), en el cual se puede apreciar las señales características de la molécula. Aquí podemos ver que el pico correspondiente a la señal de 3 345 cm^{-1} pertenece a las tensiones de los grupos OH, además se observa en 2 974 cm^{-1} las tensiones de los enlaces C-H. La señal de 1 043 cm^{-1} es debido a los enlaces C-O, por lo tanto, se puede determinar que es un alcohol secundario debido a la señal que presenta y es un espectro típico del metanol.

Figura 6
Espectro FTIR del alcohol



Fuente: el autor

Análisis por cromatografía de gases (GC)

El producto obtenido se analizó mediante cromatografía de gases. En la tabla 9 se presentan las áreas de los estándares obtenidos en los cromatogramas de la solución madre, los cuales nos sirven para la confrontación con los resultados obtenidos en las muestras realizadas. En la tabla se observa que el metanol aparece con un tiempo de retención de $9,95 \approx 10$ minutos. En cuanto a los cromatogramas de las muestras se aprecia que el tiempo de retención es de 10,027 minutos para la muestra 1; para la muestra 2 fue de 10,026 minutos; para la muestra 3 fue de 10,033 minutos. Prácticamente han coincidido entre cada una de ellas y con el tiempo de retención de la solución madre (tabla 10).

Tabla 9
Área de los picos de la solución madre obtenida
de la cromatografía de gases (GC)

Tiempo de retención (min)	Área	Cantidad (mg%ccAA)*	Nombre
9,645	74,70209	271,64244	Acetaldehido
9,950	501,83682	1421,18582	Metanol
13,135	582,08374	1229,76171	Acetona
13,363	576,95496	989,35884	Iso – Propanol
15,920	679,01575	1149,92623	N – Propanol
18,270	665,68048	771,97788	Iso – Butanol
19,240	2216,05566	-	Etilacetao
20,852	710,28900	923,46740	Iso – amilicio
21,499	-	-	N - Amilico
23,150	624,01172	1783,46740	furfural
* mg%ccAA = porcentaje de miligramos por centímetro cubico de alcohol anhidro.			

Fuente: el autor

Tabla 10
Área de los picos de las muestras obtenidas
de la cromatografía de gases (GC)

Muestra n°	Tiempo de retención (min)	Área	Cantidad (mg%ccAA)	Nombre
M1	10,027	2,70190	26,15300	Metanol
M2	10,026	2,11530	20,08482	Metanol
M4	10,033	2,06124	17,49249	Metanol
Promedio	—	—	21,24343	Metanol

Fuente: el autor

De los resultados obtenidos se deduce que la cantidad promedio conseguida de bioetanol a partir de los desechos de banano fue de 21,24 mg por ml de alcohol anhidro. Hay que considerar que la cantidad de celulosa extraída inicialmente fue del 34%, las cual nos permitirá calcular le rendimiento obtenido, tanto en la fermentación como en la hidrólisis.

Rendimientos

Para estimar el rendimiento de la hidrolisis aplicamos la ecuación 8 descrita en la metodología, la cual da un rendimiento del 56,76%, lo que no indica que es un valor aceptable considerando el procedimiento propuesto.

$$\text{Rendimiento de hidrolisis} = \frac{19.3 * 300}{34 * 300} * 100 = 56,76 \%$$

De igual manera, se estimó el rendimiento de la fermentación mediante la fórmula descrita en la ecuación 9 y se obtuvo un valor del 99% para la primera muestra. Para la segunda 93,8%. Para la tercera muestra fue del 96,74 %. Estos resultados nos dicen que el rendimiento del proceso propuesto ha sido efectivo.

$$\text{Rendimiento de la fermentación} = \frac{10,1 - 0,1}{10,1} * 100 = 99,00 \%$$

Conclusiones

El análisis proximal químico de la fibra de los raquies del banano es de vital importancia, puesto que ayuda a comprender el comportamiento de la fibra en los posteriores tratamientos de hidrólisis. En el caso de la solubilidad la fibra tiene una similar solubilidad en agua caliente como en sosa caustica, sin embargo, no es alta por lo que es necesario aumentar la temperatura para aumentar esta solubilidad. Este parámetro nos da un indicio de las condiciones que debemos tener en los procedimientos de hidrólisis.

En la extracción de la celulosa, se plateó un procedimiento en el cual un parámetro que influyó es la granulometría de la fibra ya que a un menor tamaño dificulta en el proceso de filtración de la celulosa. Sin embargo, en esta investigación se trabajó con un tamaño de grano de 1,4 mm siendo un tamaño adecuado para manipular en el proceso de filtración.

En el método propuesto para la extracción de la celulosa se obtuvo un valor del 34% considerando las condiciones planteadas podemos decir que es efectivo dicho método ya que el valor obtenido está dentro de los resultados consultados en la literatura.

Para la conversión de la celulosa a glucosa se realizó una hidrólisis con ácido sulfúrico a una concentración del 80%, con el objetivo de lograr la mayor conversión de la celulosa a glucosa (figura 3), siendo este proceso un factor importante para la obtención del bioetanol, ya que a mayor conversión de la celulosa la cantidad de bioetanol obtenida será mayor.

Se obtuvo bioetanol con un rendimiento en la hidrólisis del 56% y en la fermentación fue del 99%, lo que nos indica que algo más de la mitad de la celulosa se convirtió en glucosa y casi toda la glucosa obtenida se volvió bioetanol mediante fermentación. Esto nos indica que el proceso de hidrólisis ácida para conversión a glucosa amerita otras condiciones para que el porcentaje aumente.

Agradecimientos

La presente investigación fue desarrollada en los laboratorios de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, gracias al proyecto denominado “Estudio de biomasas lignocelulósicas provenientes de desechos orgánicos para la obtención de polímeros biodegradables”.

Bibliografía

- Abril, A. (junio, 2010). *Etanol a partir de Biomasa Lignocelulósica*. S/E.
- Álvarez-Castillo, García-Hernández, Domínguez-Domínguez, Grana-dos-Baeza, Aguirre-Cruz, Carmona-García, Mendoza-Martínez. (septiembre, 2012). Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 140-150.
- Arellano Perales, C. (marzo, 2015). *Obtención de bioetanol a partir de ma-teriales lignocelulósicos sometidos a hidrólisis enzimática*. Veracruz, México: Orizaba.
- Escalante, J. y Fuentes, H. (septiembre, 2013). *Estudio experimental de ob-tención de bioetanol a partir de residuos agrícolas de banano orgá-nico en Piura*. Piura, Perú: Programa Académico de Ingeniería In-dustrial y de Sistema.
- Gil, D. B., Bocourt, E. C. y Maqueira, Y. D. (mayo-agosto, 2006). Determi-nación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *ICI-DCA*, 45-50.
- Hernao, L., Rojas, I. D. y Giraldo, G. A. (septiembre, 2009). Cuantificación de celulosa proveniente de residuos de la industria del mueble. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, 23-28.
- International, A. (2017). Standard Test Methods for Particle Size (Sie-ve Analysis) of Plastic Materials. *ASTM D1921-01*. Rusia: West Conshohocken.
- Jiménez-Muñoz, E. (2017). Obtención de pulpa de celulosa a partir de resi-duos de agave. *DYNA*, 253-260.
- López, L. N., Cárdenas, A. A. y Zambrano, R. G. (diciembre, 2013). Eva-luación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 317-326.

- López-Martínez, Bolio-López, Veleza, Solórzano-Valencia, costa-Tejada, Hernández-Villegas, Córdova-Sánchez. (junio, 2016). Obtención de celulosa a partir de bagazo de caña de azúcar. *Agroproductividad*, 41-45.
- Malagón, M. (2009). Obtención de etanol a partir de brócoli y cáscara de arveja empleando la enzima multifect 720 de carácter básico a nivel de laboratorio. *Memorias del IV Simposio de Química Aplicada-SIQUIA*. Bogotá, Colombia.
- Marín, J. C. (2012). *Pretratamiento con agua líquida caliente de raquis de banano*. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Pepijn, P. (septiembre, 2010). *Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas*. Sevilla, España: Departamento de Biotecnología Vegetal.
- Pérez, V. I. y Colorado, A. A. (noviembre, 2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *DYNA*, 21-27.
- Ramos, R. T., Alpírez, G. M., Beleño, M. T., Palomar, L. T. y Pérez Pelayo, L. J. (2015). Lignina obtenida de residuos agrícolas como biocombustible de tercera generación. *Ciencia y Tecnología*, 151-164.
- Simbaña, A. y Mera, M. (2010). Fibras naturales y residuos agroindustriales: fuente sostenible de materia prima. *AXIOMA: Revista Informativa de Docencia, Investigación y Proyección Social*, 15-16.
- Tapia, C., Paredes, C., Simbaña, A. y Bermúdez, J. (octubre, 2006). Aplicación de las fibras naturales en el desarrollo de materiales compuestos. *Revista Tecnológica ESPOL*, 19(1), 113-120.

Biocontrol del *damping-off* en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) a través del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* (rifai)

Manuel Ernesto Delgado F.*

Jorge Ramírez Robles⁺

Carlos Hernández*

Jorge Plasencia*

Introducción

En Ecuador el cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) se ha incrementado, aunque el problema radica en el manejo del cultivo. En este sentido, la producción de tomate se ve amenazada por varias enfermedades fúngicas entre las que destacamos el *damping-off* o mal del semillero, que provoca necrosis y muerte de la planta. El agente causal de la enfermedad es *Pythium aphanidermatum*, principalmente (Jayaraj *et al.*, 2005; Christy Jeyaseelan *et al.*, 2012; Kipngeno *et al.*, 2015).

* Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador, sede Cuenca.

+ Universidad Técnica Particular de Loja.

El género *Pythium* pertenece a la clase *Oomycetes*, que posteriormente se separó del grupo de hongos verdaderos y se colocó dentro del reino cromista (Alhussaeen *et al.*, 2011). El *damping-off* se ha convertido en el principal problema fitopatológico en plántulas. La enfermedad se presenta generalmente luego del mes de siembra y puede mostrarse de dos formas: 1) cuando el hipocótilo, luego de emerger, se empapa y decolora en la superficie del suelo, las plántulas se caen, marchitan y mueren; 2) cuando el hipocótilo es atacado antes que emerja del suelo, pudiéndose infectar la corona y tallo de las plantas provocando la pudrición de la corona y tallo (Elshahawy *et al.*, 2018).

El tratamiento con fungicidas químicos es un método común utilizado para controlar la enfermedad, pero el problema radica en el efecto de este tipo de sustancias para el ecosistema. En este panorama, el control biológico con microorganismos surge como alternativa y necesidad para esta enfermedad (Lumsden y Locke, 1989). Está bien documentado el uso de *Trichoderma spp.*, como agente de biocontrol de enfermedades fitopatógenas (Faruk y Rahman, 2015; Elshahawy *et al.*, 2017a y b). Varios trabajos hacen referencia a la eficacia de hongos del género de *Trichoderma* en el control de la enfermedad (Howell, 2002; Le *et al.*, 2003; Jayaraj *et al.*, 2006; Kipngeno *et al.*, 2015). Elshahawy y El-Mohamedy (2019) utilizaron aislados *Trichoderma* para el control de la pudrición de la raíz en tomate de árbol y se reportó un control del 57,2% y el incremento en la supervivencia de las plantas en un 87,5%. De acuerdo a los resultados que se expusieron, *Trichoderma* estimuló los sistemas de defensa sistémicos en las plantas de tomate en campo, lo que incluye la activación de enzimas de defensa como la peroxidasa, polifenoloxidasa y quitinasa. Además, el contenido de clorofila en las hojas de las plantas de tomate se incrementó notablemente. Se concluyó que los aislados *Trichoderma* se pueden usar para controlar el *damping-off* o pudrición de la raíz del tomate causada principalmente por *Pythium aphanidermatum*, aunque se pueden encontrar otros hongos asociados a la enfermedad (López *et al.*, 2014).

Sobre la base de lo expuesto, el presente estudio tuvo como propósito valorar el uso de *T. harzianum* para el control del *damping-off* o mal del semillero en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) ecotipo puntón amarillo, *in vitro* y en campo.

Materiales y métodos

Ubicación del lugar de ensayo

El estudio en campo se llevó a cabo en la estación experimental del austro del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), sector Bullcay, cantón Gualaceo, provincia del Azuay. Se sembraron 180 plántulas en tres surcos de suelo areno-arcilloso, la valoración se hizo en un período de dos meses (León *et al.*, 2004). Las coordenadas de ubicación son: longitud 78°46'39.93" O y latitud 2°51'52.97". La temperatura promedio fue de 18° C con una humedad relativa del 75% y precipitación anual de 750 mm, a una altura de 2 230 msnm. El estudio *in vitro* se hizo en los laboratorios de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana.

Aislamiento de hongos fitopatógenos

En campo se colectaron muestras vegetales con síntomas de la enfermedad (tallos y raíz). En el laboratorio se lavaron con agua estéril y se hicieron pequeños cortes que se depositaron en cajas Petri con medio PDA. Estas muestras se incubaron a una temperatura de 20° C por cinco días hasta la aparición de micelios (Agrios, 1998). Posteriormente, se formaron cultivos monospóricos de los hongos asociados a la enfermedad

Identificación de los aislados fúngicos asociados a la enfermedad

Se examinaron propiedades morfológicas como: color, forma, tamaño de las esporas, número, estructura, grosor, tipo de micelio,

características de las hifas, tipo de conidiogénesis y fíalides cuando se presentan. El análisis microscópico, macroscópico y el uso de claves taxonómicas nos sirvieron para establecer la ubicación taxonómica de los aislados fúngicos (Kirk y Cannon 2008). Para la identificación se utilizó un microscopio compuesto Carl Zeiss Axioplan C124726-Cámara-MC100.

Ubicación taxonómica de T. harzianum

La identificación se hizo mediante una clave interactiva en línea referente a la descripción del género (Samuels *et al.*, 2002). También se hizo el estudio biomolecular correspondiente, que se fundamentó en la amplificación de la región ribosomal ITS (Internal Transcribed Spacers), que incluye los genes espaciadores no codificantes ITS1 e ITS2 y el gen 5,8S, mediante la utilización del *forward* primer ITS1 y el revers primer ITS4 (White *et al.*, 1990), seguido por la secuenciación realizada por Macrogen Inc. La secuencia fue confrontada con la secuencia presente en el GenBank usando el BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) de la NCBI (National Center for Biotechnology Information) para la identificación del fragmento y Mycobank Pairwise Sequence Alignment del banco internacional de cepas CBS-Utrecht (código de acceso T. *harzianum* MH455286). La cepa que se utilizó en este estudio pertenece a la colección de hongos filamentosos de la Universidad Politécnica Salesiana.

Evaluación in vitro del efecto antagónico del aislado de T. harzianum

La evaluación se hizo en cajas Petri de 9 cm de diámetro con medio PDA a una distancia de 2,5 cm. Desde el filo de las cajas hacia el centro se depositaron discos de micelio de 5 mm de diámetro del aislado T. *harzianum*, discos de micelio de los patógenos asociados a la enfermedad se colocaron en posición opuesta y equidistante. El control se hizo con un testigo referencial absoluto, en cajas Petri con medio de cultivo PDA se colocaron discos de micelio de 5 mm de

diámetro del aislado *T. harzianum*, en las mismas condiciones pero no sujetos a confrontación.

La capacidad inhibitoria de *T. harzianum* se fundamenta en la confrontación de las cepas en análisis. (Fokkema, 1973), fórmula de Van Den Heuvel (% Inhibición = $100 \times (R-r)/R$), donde (R y r) es el radio de crecimiento de la colonia del hongo antagonista y fitopatógeno. Las mediciones periódicas del desarrollo de las colonias hasta por cinco días nos sirvieron para valorar la competencia por sustrato y el grado de antagonismo bajo los siguientes criterios:

Trichoderma sobrecrece completamente al patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo.

Trichoderma sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.

Trichoderma y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo y ningún organismo parece dominar al otro.

El patógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y parece resistir a la invasión por *Trichoderma*.

El patógeno sobrecrece completamente a *Trichoderma* y ocupa la superficie total del medio de cultivo (Bell *et al.*, 1982).

Formación de inóculos fúngicos

Muestras miceliares de *T. harzianum* se colocaron en medio del cultivo PDA contenido en matraces de 1 000 ml y se incubaron por un período de diez días a una temperatura de 28° C. Luego del período de incubación se hicieron cinco lavados con 100 ml de agua destilada estéril hasta completar un volumen de 500 ml. Con una gasa estéril se filtró la solución y mediante una cámara de Neubauer al microscopio se contó el número de conidios. Para la aplicación

de la solución conidial se empleó sacarosa al 5% hasta completar un volumen de 1 000 ml.

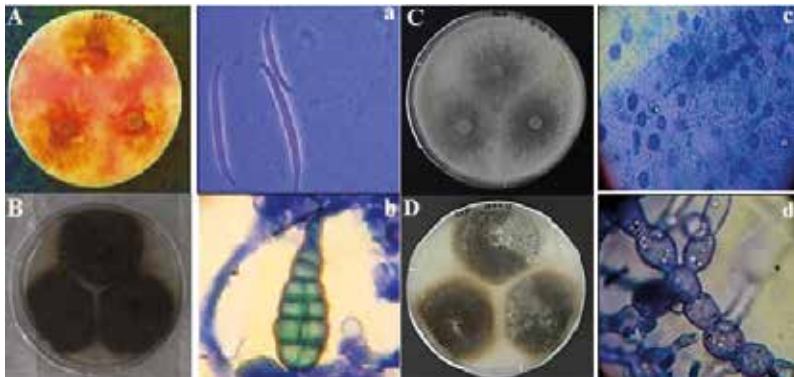
Cuando las plántulas mostraron los primeros síntomas de la enfermedad se fumigaron con 10 ml de la suspensión de *T. harzianum*. El riego posterior a la aplicación del tratamiento se hizo con agua blanda mediante aspersión para mantener las condiciones de humedad relativa (75%) y temperatura (18° C).

Resultados

Aislamiento de hongos fitopatógenos

Las cepas fúngicas que se aislaron de las muestras vegetales con síntomas de la enfermedad fueron: *Phyitium* sp. *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. y *Oidium* sp. (figura 1). La ubicación taxonómica se hizo en base a la metodología descrita, pero no se hizo el estudio biomolecular correspondiente.

Figura 1
Cepas fúngicas aisladas



Fuente: los autores

En la figura podemos ver: (A,a) *Fusarium* sp. (A) Cultivo monospórico de la colonia en caja Petri con medio PDA (a) Macroconidia forma de banana septada transversalmente (B,b) *Alternaria* sp. (B) Cultivo monospórico de la colonia en caja Petri con medio PDA (b) Conidias ovoides septadas (C,c) *Pythium* sp (C) Cultivo monospórico de la colonia en caja Petri con medio PDA (c) Esporangios globosos del género al microscopio (D,d) *Oidium* sp (D) Cultivo monospórico de la colonia en caja Petri con medio PDA (d) Conidióforo con conidios inmaduros.

Ubicación taxonómica de T. harzianum (Rifai)

La ubicación taxonómica de los aislados fúngicos asociados a la enfermedad se hizo en base a la metodología descrita, pero no se hizo el estudio biomolecular. La cepa *T. harzianum* se identificó mediante la metodología descrita y el análisis biomolecular correspondiente (código de acceso MH455286).

Esta especie se puede encontrar en materia orgánica y suelos, es ampliamente conocida por la producción de toxinas y antibióticos. En un inicio el color del micelio es blanco y eventualmente desarrolla un color verde oscuro después de la esporulación. Las colonias crecen y maduran rápidamente a los cinco días de incubación en medio del cultivo (PDA) a 25° C. Los conidióforos son de color verde, presentan diversas ramificaciones perpendiculares y en algunos casos se observa la formación de ramas laterales. Las fíalides son largas y delgadas, asimétricas, con verticilos terminales de hasta cuatro conidios, de forma citriforme y subglobosos (figura 2).

Figura 2

- (A) *T. harzianum*: conidióforo de forma piramidal, conidios y fiálides.
(B) Cultivo puro *T. harzianum* en caja Petri con medio PDA



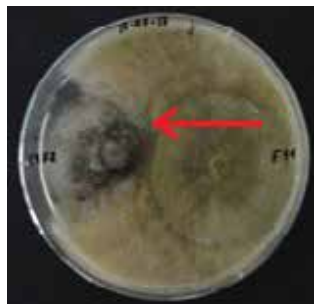
Fuente: los autores

Evaluación in vitro del efecto antagonístico de T. harzianum

Los resultados de las pruebas de antagonismo evidencian la capacidad inhibitoria del hongo antagonista frente a los fitopatógenos (figura 3, tabla 1).

Figura 3

Valoración *in vitro* de la actividad antagonística



Fuente: los autores

En la figura se observa la valoración *in vitro* de la actividad antagónica de *T. harzianum* frente a *Phytium* sp., en caja Petri con medio PDA luego de un período de 10 días. De derecha a izquierda se observa que la colonia de *T. harzianum* crece sobre la colonia de *Phytium* sp.

Tabla 1
Porcentajes de inhibición de *T. harzianum* frente a los fitopatógenos asociados a la enfermedad

<i>T. harzianum</i>	<i>Alternaria</i> sp	85%
<i>T. harzianum</i>	<i>Pythium</i> sp	80,50%
<i>T. harzianum</i>	<i>Fusarium</i> sp	80,25%
<i>T. harzianum</i>	<i>Oídium</i> sp	85%

Fuente: los autores

Los resultados del antagonismo que presenta *T. harzianum* frente a los fitopatógenos fue grado [1], sobrecreció las colonias de los hongos fitopatógenos.

Formación de inóculos fúngicos de T. harzianum

La concentración de la solución (inóculo) que se utilizó fue 1×10^6 conidios/ml.

Valoración en campo del efecto antagónico de T. harzianum

Cuando se presentaron los primeros síntomas de la enfermedad, se aplicaron los inóculos que corresponden al tratamiento (10 ml de suspensión en cada planta). La primera aplicación del tratamiento se hizo 20 días luego de la siembra, posteriormente se hizo dos repeticiones más cada 20 días, en un período total de estudio de 60 días. Las mediciones del grosor del tallo y altura se hizo con un micrómetro y los resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2
Grupos de datos referentes al diámetro/grosor
del tallo de las plántulas en mm

Testigo/20 días	T1/ 20 días	Testigo/40 días	T1/40 días	Testigo/60 días	T1/60 días
0	1,96	0	2,27	0	2,27
0	2,11	0	2,91	0	2,33
0	2,12	0	2,92	0	2,33
0 1,44	2,18 2,28	0 1,55	2,92 2,94	0 1,56	2,45 2,53
1,53	2,29	1,59	2,95	1,65	2,63
1,56	2,31	1,6	2,97	1,76	2,69
1,61	2,38	1,64	3,13	1,84	2,7
1,68	2,44	1,7	3,14	1,91	2,76
1,69	2,48	1,73	3,16	1,91	2,78
2,01	2,63	1,96	3,2	2	2,86
2,07	2,7	1,96	3,39	2,01	2,88
2,08	2,74	2,04	3,43	2,06	2,96
2,13	2,76	2,2	3,55	2,11	2,97
2,17	2,79	2,23	3,57	2,17	3,07
2,19	2,8	2,41	3,62	2,18	3,15
2,21	2,85	2,53	3,95	2,24	3,73
2,25	2,87	2,55	3,99	2,33	3,88
2,3	2,95	3,49	4,13	2,7	4,31
2,62	3,59	3,61	4,19	3,01	4,43
El casillero que no registra valor numérico, hace referencia a las plántulas que murieron. T1 se refiere a los tratamientos.					

Fuente: los autores

Análisis de varianza (Grosor del tallo)

Buscamos evaluar la diferencia de las medias de los grupos de datos referentes al grosor del tallo, con el propósito de determinar si el tratamiento muestra diferencias con respecto al testigo referencial (tabla 3).

Tabla 3
Resultados del ANOVA de los grupos de datos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	29,98	59,954	27,59	0,000
Error	90	19,56	0,2173		
Total	95	49,53			
El valor p = 0 como resultado del análisis estadístico nos permitió inferir que los grupos de datos son estadísticamente diferentes con un nivel $p \leq 0,05$.					

Fuente: los autores

Las comparaciones de las medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% nos permitió identificar si las diferencias estadísticamente son significativas (tabla 4).

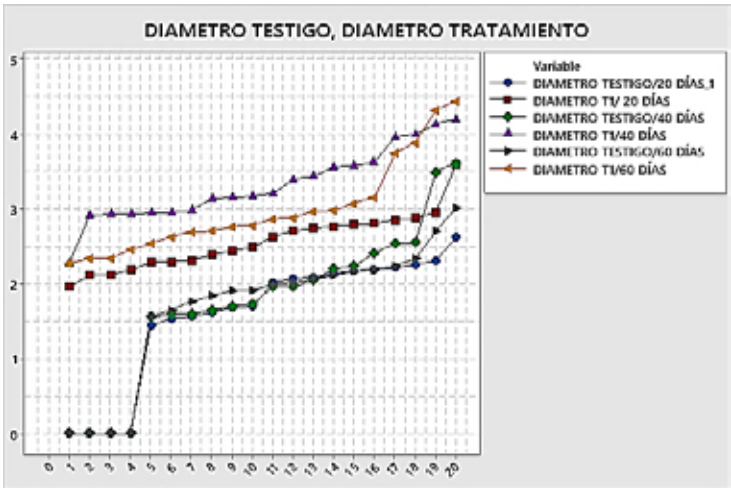
Tabla 4
Comparaciones de las medias

Factor	N	Media	Agrupación		
T1/40 días	16	3,457	A		
T1/60 días	16	3,146	A	B	
T1/20 días	16	2,6787		B	
Testigo/40 días	16	2,174			C
Testigo/60 días	16	2,0900			C
Testigo/20 días	16	1,9713			C
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.					

Fuente: los autores

De acuerdo a los resultados del análisis, la diferencia entre T1 a los 40 días con T1 a los 60 días no es significativa, mientras que la diferencia entre T1 a los 40 días, T1 a los 20 días y los testigos a los 40, 60 y 20 días es altamente significativa. La ilustración del comportamiento del testigo referencial y los tratamientos a los 20, 40 y 60 días de muestran a continuación.

Figura 4
Representación gráfica del diámetro o grosor el tallo



Fuente: los autores

En la figura, los colores (azul, verde y gris) representan a los testigos luego de 20, 40 y 60 días de la aplicación de los tratamientos. Los colores, violeta, mostaza y vino representan los tratamientos, en el mismo período de tiempo. Se puede ver que a los 40 días se logró un mayor grosor del tallo.

En cuanto a la variable altura de las plántulas, el registro de los datos se hizo siguiendo la metodología descrita, los grupos de datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5
Altura de las plantas 60 días después de la siembra en mm

Testigo/20 días	T1/ 20 Días	Testigo/40 días	T1/40 días	Testi- go/60 días	T1/60 días
0	12,3	0	15	0	21,4
0	12,5	0	15	0	20
0	13,1	0	13	0	20
0	13,4	0	14,3	0	18,5
8	13,7	13	13,4	12	18,5
9	13,8	14	13	15	15
11	15,1	15	14	13	15
12	15,46	14	15	14	15
11	15,6	15	16,4	15	15,78
6,9	16,3	16	13	13	17,67
8	16,7	15	12	12	18,45
8	17,5	14	13	13	17
8,7	18	11	14	14	17
11	13,5	11	14,5	14	17
11	14,6	10	14,5	14	16
11	13,2	10	14,4	15	16
12	14,2	11	12	15	15
11	12,4	10	13	13	17
11	14	10	12	14	17
10	15,3	10	13	14	18

Fuente: los autores

Análisis de varianza (altura de las plántulas)

A través de este análisis buscamos evaluar la diferencia de las medias de los grupos de datos, buscamos determinar si el tratamiento muestra diferencias con respecto al testigo referencial (tabla 6).

Tabla 6
ANOVA de las medias referentes a la altura de las plántulas

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	5	404,4	80,875	34,28	0,000
Error	90	212,3	2,359		
Total	95	616,7			
El valor P=0 como resultado del análisis estadístico nos permitió inferir que los grupos de datos son estadísticamente diferentes con un nivel $p \leq 0,05$.					

Fuente: los autores

Posteriormente se hicieron comparaciones mediante la prueba de Tukey, para identificar si la diferencia es significativa. Para este caso de estudio inferimos que T1 a los 20 días frente al testigo a los 60 días y 40 días, respectivamente, la diferencia no es significativa. Mientras que T1 a los 60 días, T1 a los 20 días y los testigos a los 40 y 20 días son diferentes estadísticamente. Este análisis se hizo con un nivel de confianza del 95% (tabla 7).

Tabla 7
Comparaciones en parejas (prueba de Tukey)
nivel de confianza del 95%

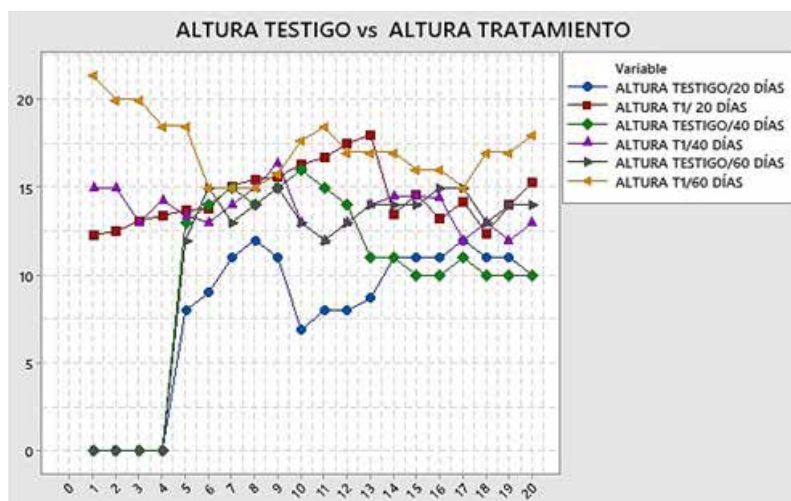
Factor	N	Media	Agrupación			
T1/60 días	16	16,587	A			
T1/ 20 días	16	14,960		B		
Testigo/60 días	16	13,750		B	C	
T1/40 días	16	13,575		B	C	

Testigo/40 días	16	12,438			C	
Testigo/20 días	16	9,975				D
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.						

Fuente: los autores

La ilustración del comportamiento del testigo referencial y los tratamientos a los 20, 40 y 60 días de muestran en la figura 5.

Figura 5
Altura testigo vs. Altura tratamiento



Fuente: los autores

La figura es la representación gráfica de los grupos de datos referentes a la variable (altura de las plántulas). Los colores azul, verde y gris, representan los testigos referenciales, luego de un período de estudio de 60 días. Los colores vino, mostaza y violeta, representan los tratamientos.

Discusión

Observamos que *T. harzianum* tiene un efecto inhibitor del crecimiento de los hongos fitopatógenos asociados a la enfermedad *in vitro* como en campo. McGehee *et al.* (2019) utilizaron *T. harzianum* como biofungicida, los resultados que se obtuvieron están de acuerdo con los obtenidos por Zaghoul *et al.* (2007). Según lo expuesto por Zeilinger y Omann (2007), *T. harzianum* es uno de los agentes de control biológico comprobados. El biocontrol de los agentes causales se produce por micoparasitismo (Elshahawy y El-Mohamedy, 2019), la producción de enzimas que degradan la pared celular y la competencia por nutrientes o espacio.

Nuestros resultados indicaron, en general, que las plántulas que recibieron el tratamiento fueron más grandes (figura 4 y 5) tenían menos síntomas relacionados con el *damping-off* en comparación con los testigos. Sin embargo, no se pudo establecer si *T. harzianum* tuvo un efecto sobre la carga microbiana nativa del suelo. Se necesita más investigación para establecer el efecto de los biofungicidas en los sistemas de producción.

Conclusiones

En este estudio, los agentes causales asociados a la enfermedad del *damping-off* fueron los hongos *Phytophthora* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., y *Oidium*. *In vitro* se evidenció la actividad antagonista de *T. harzianum* frente a los fitopatógenos, se redujo el crecimiento de las colonias cuando los micelios entran en contacto. El antagonista sobrecreció sobre el micelio e inhibió la proliferación. En campo el incremento de la biomasa vegetal fue evidente, los resultados presentados a través de este estudio sugieren la utilización de la especie fúngica *T. harzianum* para el control de los agentes causales asociados al *damping-off* en tomate de árbol.

Bibliografía

- Agrios, G. N. (1998). *Fitopatología* 3. México DF: Limusa.
- Alhussaen, K., Hussein, I. E., Al-Batayneh, K. M., Al-Khatib, M., Al Khateeb, W., Jacob, J. H., Hegazy, M. I... (2011). Identification and controlling *Pythium* sp. infecting tomato seedlings cultivated in Jordan Valley using garlic extract. *Asian Journal of Plant Pathology*, 5(2), 84-92.
- Bell, D. K., Wells, H. D. y Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72(4), 379-382.
- Elshahawy, I. E. y El-Mohamedy, R. S. (2019). Biological control of *Pythium* damping-off and root-rot diseases of tomato using *Trichoderma* isolates employed alone or in combination. *Journal of Plant Pathology*, 1-12.
- Elshahawy, I., Abouelnasr, H., Lashin, S. y Darwesh, O. (2018). First report of *Pythium aphanidermatum* infecting tomato in Egypt and its control using biogenic silver nanoparticles. *J. Plant. Prot. Res.*, 58(2), 137-151.
- Elshahawy, I., Saied, N. y Morsy, A. (2017b). *Fusarium proliferatum*, the main cause of clove rot during storage, reduces clove germination and causes wilt of established garlic plants. *Journal of Plant Pathology*, 99(1), 81-89.
- Elshahawy, I., Saied, N., Abd-El-Kareem, F. y Morsy, A. (2017a). Biocontrol of onion white rot by application of *Trichoderma* species formulated on wheat bran powder. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(3-4), 150-166.
- Faruk, M. y Rahman, M. (2015). Management of tomato seedling rot disease (*Rhizoctonia solani*) in seedbed with *Trichoderma harzianum* bio-fungicide. *Agric. Sci. Res. J.*, 5(1), 14-20.
- Fokkema, N. (1973). The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechslera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. *Physiological Plant Pathology*, 3(2).
- Howell, C. (1998). The role of antibiosis in biocontrol. En G. Harman y C. Kubicek (eds.), *Trichoderma & Gliocladium* (vol. 2). Padstow: Taylor & Francis.
- Howell, C. (2002). Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 92, 177-180.

- Jayaraj, J., Radhakrishnan, N. y Velazhahan, R. (2006). Development of formulations of *Trichoderma harzianum* strain M1 for control of damping-off of tomato caused by *Pythium aphanidermatum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(1), 1-8.
- Jayaraj, J., Radhakrishnan, N., Kannan, R., Sakthivel, K., Suganya, D., Venkatesan, S. y Velazhahan, R. (2005). Development of new formulations of *Bacillus subtilis* for management of tomato damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Biocontrol Sci. Tech.*, 15(1), 55-65.
- Jeyaseelan, E. C., Tharmila, S. y Niranjana, K. (2012). Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. against *Pythium aphanidermatum* isolated from tomato damping-off. *Archives of Applied Science Research*, 4(4), 1623-1627.
- Kipngeno, P., Losenge, T., Maina, N., Kahangi, E. y Juma, P. (2015). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* against *Pythium aphanidermatum* in tomatoes. *Biol Control*, 90, 92-95.
- Kirk, P. M., Cannon, P., Minter, D. y Stalpers, J. (eds.). (2008). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. X International Mycological Institute, CAB International, Wallingford. 784 p.
- Le, H., Black, L. y Sikora, R. (2003). Evaluation of *Trichoderma* species for biocontrol of tomato sudden death caused by *Pythium aphanidermatum* following flooding in tropical hot season. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 68, 463-474.
- Lee, T. (1973). On extraction and quantitation of plant peroxidase isoenzymes. *Physiol. Plant.*, 29, 198-203.
- León, J. (2004). *Manual del cultivo de tomate de árbol*. Quito: Tecnigrava.
- López, S., Medina, R., Franco, M. y Balatti, P. (junio, 2014). Control biológico de patógenos causantes del Damping-off. En *Congreso Argentino de Fitopatología: Sanidad vegetal con responsabilidad social* (vol. 3).
- Lumsden, R. y Locke, J. (1989). Biological control of damping-off caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* with *Gliocladium virens* in soilless mix. *Phytopathology*, 79(3), 361-366.
- McGehee, C., Raudales, R., Elmer, W. y McAvoy, R. (2019). Efficacy of bio-fungicides against root rot and damping-off of microgreens caused by *Pythium* spp. *Crop Protection*, 121, 96-102.
- Oxoid. (1995). *Manual de medios de cultivo*. UNIPATH-España.
- Rifai, M. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 116, 1156.

- Samuels, G., Chaverr, P., Farr, D. y McCray, E. (2002). Trichoderma online. *Systematic mycology and microbiology laboratory*. Recuperado de http://nt.ars-grin.gov/taxa_descriptions/keys/Trichoderma_Index/
- Valencia, H. (1979). La microbiología del suelo y sus perspectivas. *Boletín Informativo Departamento de Biología*, 1, 1-18. UNC, Colombia.
- Valencia, I. y Hernández, B. (2002). *Muestreo de suelos, preparación de muestras y guía de campo*. Universidad Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores de Cautitlán.
- White, T., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky y T. White (eds), *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-332). Academic Press, San Diego.
- Zaghloul, R., Hanafy Ehsan, A., Neweigy, N., Khalifa Neamat, A. (2007). Application of biofertilization and biological control for tomato production. En R. Zaghloul, A. Hanafy Ehsan, N. Neweigy y A. Khalifa Neamat (eds), *12th Conference of Microbiology* (pp. 18-22). El Cairo, Egypt.

Estudio de los niveles de calcio, potasio, magnesio y sodio en dos núcleos sedimentarios del lago de Maracaibo en Venezuela

Julio Torres^{1,2}

Hilda Ledo²

Keila Monsalve²

Yulixis Cano^{1,2}

Ligbel Sánchez^{2,3}

Jean Pérez¹

Introducción

En los últimos años han aumentado las investigaciones referentes a una gran cantidad de sustancias y elementos presentes en los sedimentos, considerándolos como depósitos en los que las especies químicas se almacenan (Ntakirutimana *et al.*, 2013). La presencia de metales en el medio marino es el resultado de la migración biogeo-

1 Departamento de Química, Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

2 Facultad Experimental de Ciencias, Laboratorio de Química Ambiental, Universidad del Zulia, Venezuela.

3 Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

química de los elementos desde las fuentes naturales y antropogénicas situadas principalmente en el continente y transportadas por vías fluviales y atmosféricas hacia los ecosistemas acuáticos (Wang *et al.*, 2014) reflejando tanto la composición natural de diferentes áreas, como las actividades humanas a lo largo de la cuenca (Álvarez *et al.*, 2012). En los sedimentos los metales no permanecen estables y pueden ser liberados a la columna de agua por los cambios de las condiciones ambientales (Pugibet *et al.*, 2006; Harikumar *et al.*, 2010), siendo motivo de gran preocupación en el mundo debido a su naturaleza tóxica, persistente, su poder de bioacumulación, riesgo potencial para la salud humana y los organismos marinos (De Andrade *et al.*, 2010; Ávila, 2014).

Durante las últimas décadas, el estudio de los núcleos sedimentarios ha demostrado ser una excelente herramienta para evidenciar enriquecimiento a lo largo del tiempo de los procesos antropogénicos y naturales en ambientes sedimentarios (Yang *et al.*, 2014). Los núcleos de sedimentos puede ser un archivo histórico, que registra el flujo y destino de metales en los sistemas acuáticos (Zhang *et al.* 2019).

El lago de Maracaibo es un receptor de efluentes de diferentes fuentes de metales, desde las relacionadas con el uso de pesticidas, descargas domésticas e industriales (Monsalve *et al.*, 2015; Ávila, 2014). Además la salinidad en el lago de Maracaibo ha variado notablemente sus valores desde 1937 hasta 1953, cuando se dio inicio a la construcción del canal de navegación, favoreciendo el desarrollo anóxico del lago (Torres *et al.*, 2010). El lago de Maracaibo presenta cuatro rasgos limnológicos fundamentales: 1) un cono hipolimnético consistente y de gran tamaño en el centro, que contiene aguas anóxicas, con alto nivel de salinidad y aguas estratificadas; 2) el movimiento de las masas de aguas del epilimnio alrededor de este cono y en sentido contrario a las agujas del reloj; 3) las influencias del río Catatumbo que aporta un gran cantidad de agua dulce al lago; 4) la intrusión de aguas de mar que llegan al lago por el fondo de la cuña

salina a través del estrecho (Herman, 1997; Rodríguez, 1973). Hasta el momento no se reporta ningún trabajo en el lago de Maracaibo se realizarán la cuantificación de los metales Ca, K, Mg y Na en núcleos.

El objetivo del presente estudio fue determinar las concentraciones de calcio (Ca), potasio (K), magnesio (Mg) y sodio (Na) en dos núcleos de sedimento del lago de Maracaibo, con la finalidad de verificar el perfil de abundancia natural y antrópica.

Materiales y métodos

El muestreo de los núcleos sedimentarios se realizó en junio de 1998 (época de sequía), en las estaciones pertenecientes a la Red de Monitoreo Ambiental del Lago de Maracaibo. El muestreo se realizó en la estación C-11 (09° 51' 31" N latitud y 071° 31' 11" O longitud) conocida como "cono hipolimnético" del lago de Maracaibo, con una profundidad máxima de 27 m, y en la estación NO-2 (10° 06' 28" N latitud y 071° 27' 05" O longitud), ubicada cerca del estrecho del lago de Maracaibo, con una profundidad máxima de 15 m (figura 1). La captación del núcleo sedimentario de 50 cm se realizó utilizando un muestreador de gravedad. El núcleo de sedimento fue conservado en frío hasta llegar al laboratorio, donde fue congelado a una temperatura menor de -4° C, se dividió el núcleo en secciones de 5 cm para luego secar la muestra utilizando un liofilizador labconco, el cual se trituro, tamizo y se almaceno en bolsas de cierre hermético hasta su uso.

El análisis se realizó utilizando el método de digestión ácida ISO-11466.3 (HCl:HNO₃ 3:1). Se pesó 0,1 g de sedimento liofilizado y se sometió a una etapa de predigestión a temperatura ambiente por 24 horas con 10 ml de la mezcla de ácidos (3:1). La suspensión obtenida se llevó a digestión a una temperatura aproximadamente de 130° C por 15 minutos. La muestra se enfrió, se filtró y se diluyó a 25 ml con agua de grado I-ASTM. Posteriormente se determinaron las concentraciones de Ca, K, Mg y Na con un ICP-MS marca Agilent Technologies serie 7500.

Resultados

Estación C-11 (cono hipolimnético)

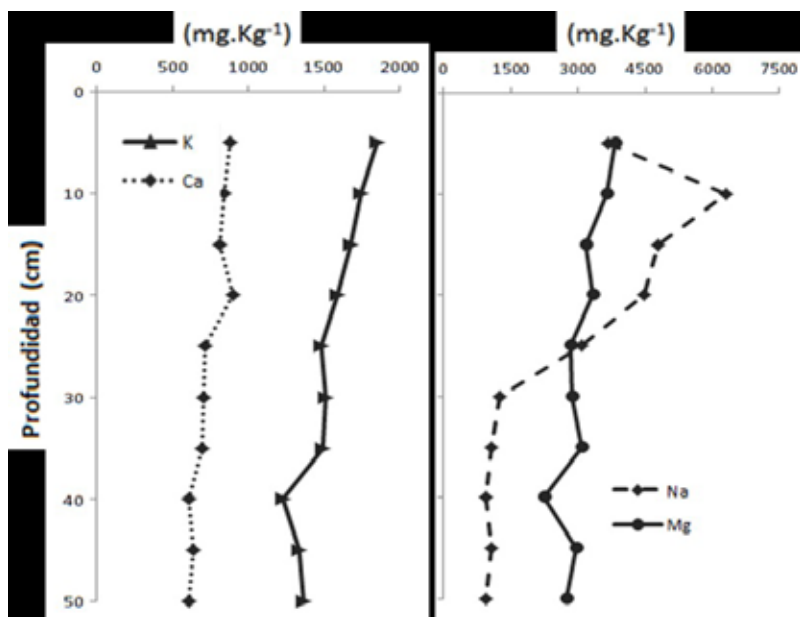
En la Figura 2 se presenta el perfil vertical de las concentraciones de Ca, K, Mg y Na en el núcleo sedimentario del cono hipolimnético del lago de Maracaibo, conocido como estación C-11, zona donde se encuentra el sedimento anóxico del lago. Se observa en el núcleo sedimentario una disminución de las concentraciones totales de Na, Ca, Mg y K de la superficie al fondo. Este comportamiento puede evidenciar un enriquecimiento de los analitos a través del tiempo, con el siguiente orden creciente de las concentraciones (mg/kg) encontradas para los analitos en estudio: $Mg > Na > K > Ca$.

En la figura 2 se observa una variación de la concentración de calcio de 879 ± 58 mg/kg a 0 cm y 612 ± 10 mg/kg a 50 cm, con un valor de concentración máximo de 898 ± 63 mg/kg encontrado a una profundidad de 20 cm. La tendencia en el perfil de concentración del potasio (figura 2) cuenta con una concentración de 1853 ± 93 mg/kg a 0 cm y 1367 ± 128 mg/kg a 50 cm. Los mayores valores encontrados a 0 cm indica contaminación reciente por actividades humanas, las cuales pueden ser la agricultura y las fuentes urbanas e industriales (Zhang *et al.* 2019).

El perfil de concentración del magnesio mostrado en la figura 2 presenta una concentración de 3831 ± 201 mg/kg de magnesio a 0 cm y 2747 ± 44 mg/kg a 50 cm. La concentración del sodio a los 0 cm del núcleo evaluado fue de 3662 ± 138 mg/kg y a 50 cm fue 956 ± 39 mg/kg. Se evidencia un aumento progresivo y homogéneo entre los 30 y 50 cm de profundidad, pero los primeros 25 cm ocurren incrementos bastantes pronunciados.

En general se encontró que los metales evaluados a nivel superficial presento los mayores valores con respecto a las concentraciones a 50 cm, indicativo de que probablemente esos pueden ser considerados valores de línea base.

Figura 2
Distribución longitudinal de Ca, K, Mg y Na
en el núcleo sedimentario de la estación C-11

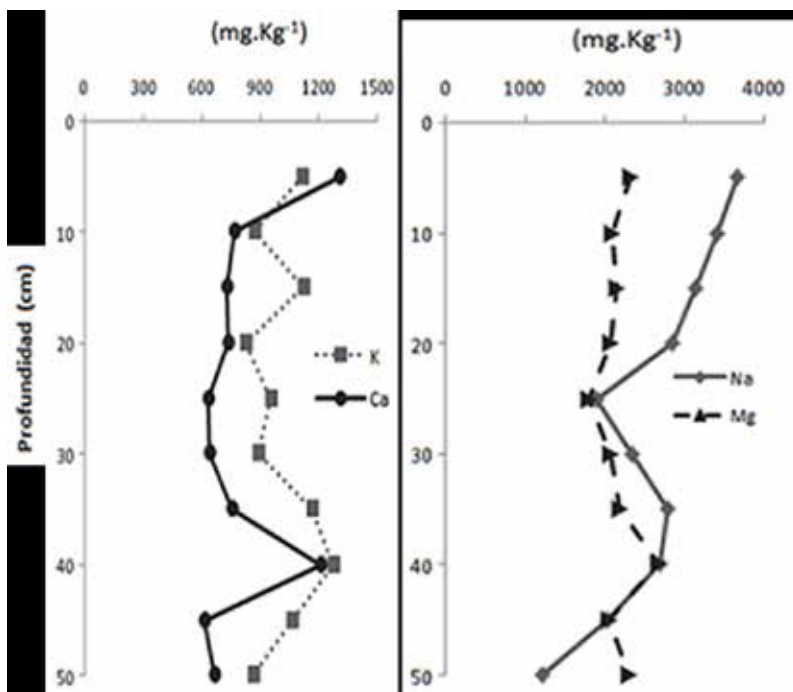


Fuente: los autores

Estación NO-2

En la figura 3 se muestra el comportamiento de las concentraciones de Ca, K, Mg y Na a lo largo del núcleo sedimentario de 50 cm de la estación denominada NO-2, zona con alta influencia de las actividades urbanas e industriales realizadas en la ciudad de Maracaibo y municipios adyacentes, así como del efecto directo de la intrusión del agua de mar al lago. El Na y el Mg presentan una tendencia de aumento de las concentraciones desde el fondo hasta la superficie, mientras que el K y Ca presentan un comportamiento heterogéneo con zonas de aumentos y disminuciones bastante pronunciadas. Con un orden creciente de las concentraciones (mg/kg) encontradas para los analitos de la estación NO-2 de: Na > Mg > K > Ca.

Figura 3
Distribución longitudinal del Ca, K, Mg y Na
en el núcleo sedimentario de la estación NO-2



Fuente: los autores

En la figura 3 se observa el perfil vertical de concentración del Ca con una concentración de 1304 ± 36 mg/kg en la superficie y 669 ± 38 mg/kg en el fondo, a los 40 cm se produce un aumento con 1209 ± 80 mg/kg y luego la concentración desciende y se mantiene constantes entre los 10 y 35 cm. El K comparte la misma tendencia de aumento y disminución de concentraciones a lo largo del núcleo con concentraciones de 1114 ± 108 y 863 ± 6 mg/kg en la superficie y fondo respectivamente.

El Na por su parte cuenta con concentraciones de 3669 ± 293 mg/kg en la superficie y 1221 ± 55 mg/kg en el fondo del núcleo, mientras que las concentraciones del Mg entre la superficie y el fondo del núcleo son, 2318 ± 139 y 2299 ± 100 mg/kg respectivamente. El Na y el Mg al igual que el Ca y K presentan un aumento significativo a los 40 cm, lo que podría indicar que en este periodo de tiempo hubo un incremento de concentración de estos elementos en este sistema acuático.

Contribuciones antropogénicas de Ca, K, Mg y Na

El orden de contribución antropica creciente correspondiente a los núcleos sedimentarios de las estaciones C-11 y NO-2 fue: Na > Ca > Mg > K. Por otra parte, se observa una marcada contribución del Na en la estación C-11, mientras que las concentraciones de Na y Ca fueron significativas en la estación NO-2. Sin embargo, las contribuciones de Na, Mg y K en la estación NO-2 fueron menores a las de la estación C-11.

Tabla 1

Contribuciones antrópicas de Ca, K, Mg y Na en el núcleo sedimentario y con respecto a investigaciones previas en sedimentos superficiales

	Contribución antrópica (%)			
	Ca	K	Mg	Na
C-11	30,40	26,20	28,30	73,88
NO-2	48,71	22,57	0,82	66,72

Fuente: los autores

Cabe destacar que el agua de mar está formada por ciertos iones disueltos que representan su salinidad, en donde el ion calcio posee un 1,16% de participación, en estas aguas el ion potasio representa el 1,10% de la composición iónica. Mientras que el magnesio constituye el 3,70% de la composición iónica, tres veces mayor al calcio y potasio. El sodio es el mayor constituyente representando el

30,4% de la composición iónica del agua de mar, con una tendencia a adsorberse en sedimentos, estabilizándose en ellos, justificando su mayor concentración y contribución en ambos núcleos evaluados (Herman, 1997).

Es por esto que se estima que las contribuciones para los metales Na, K, Ca y Mg entre el estrato superficial y el fondo del núcleo de sedimento del lago de Maracaibo, son debido principalmente a factores naturales, provocados por la profundización y ensanchamiento del Canal de Navegación, que permitió el intercambio y dilución de agua de mar con el agua dulce del lago, el río Catatumbo y el resto de los afluentes que en el desembocan. Aunque sin dejar de lado los aportes pocos significativos de estos metales, en los desechos residuales domésticos, el impacto de la actividad agrícola, cementera, fertilizantes y pesticidas.

La manera como ingresa la cuña salina al lago de Maracaibo (figura 1), permite que la estación NO-2, ubicada en el estrecho del lago de Maracaibo, sea la primera en recibir las aguas salinas del mar Caribe y presente altas concentraciones de los metales estudiados; sin embargo, la estación C-11 está influenciada por el movimiento en sentido contrario a las agujas del reloj alrededor del cono, funcionando como un sistema vórtex, siendo así impactado por la convergencia y posterior acumulación de los aportes de metales provenientes de las actividades humanas y naturales desarrolladas alrededor de toda la cuenca del lago de Maracaibo (Herman, 1997). Encontrado así el siguiente orden de concentración y contribución de metales según la estación C-11>NO-2.

Conclusiones

El orden creciente de las concentraciones (mg/kg) encontradas para los analitos en estudio en la estación C-11 fue $Mg > Na > K > Ca$, mientras que en la estación NO-2 fue $Na > Mg > K > Ca$.

En la estación C-11 se evidenció un enriquecimiento de Ca, K, Na y Mg entre el fondo y la superficie del núcleo sedimentario del cono hipolimnético, mientras que el NO-2 presentó variaciones marcadas entre el fondo y la superficie del núcleo, originado principalmente por fuentes antrópicas que impacta al Lago como lo es el aumento de la intrusión de agua de mar. Al evaluar el perfil de contribución natural se encontró el siguiente orden: $\text{Na} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{K}$, tanto para la estación C-11 como la NO-2, con una mayor concentración de metales en la estación C-11.

Bibliografía

- Álvarez, M., Aru, R., Herrera, M., González, E., González, Y. y Sepúlveda, G. (2012). Estudio biogeoquímico del embalse Suata, Venezuela, de acuerdo al contenido metálico de sus sedimentos de fondo, aguas y peces. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(1), 103-114.
- Ávila, H., Quintero, E., Angulo, N., Cárdenas, C., Araujo, M., Morales, N. y Prieto, M., (2014). Determinación de metales pesados en sedimentos superficiales costeros del Sistema Lago de Maracaibo, Venezuela. *Multiciencias*, 14(1), 16-21.
- Corona Lisboa, J. (2012). Contaminación antropogénica en el Lago de Maracaibo, Venezuela. *Biocenosis*, 27(1-2), 85-93
- De Andrade, E., Alves, J., dos Santos, I., Patrocínio, J. y García, C. (2010). Assessment of trace metals contamination in estuarine sediments using a sequential extraction technique and principal component analysis. *Microchemical Journal*, 96, 50-57.
- Harikumar, P. y Nasir, U. (2010). Ecotoxicological impact assessment of heavy metals in core sediments of a tropical estuary. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 1742-1747.
- Herman, S. (1997). *Proceso de salinización en el Lago de Maracaibo*. Instituto para la Conservación del Lago de Maracaibo ICLAM.
- Martínez, G., Rodríguez, L. y Sénior, W. (2002). Especiación de Cd, Zn, Cr y Pb en núcleos de sedimentos de la bahía de Bergantín, Edo. Anzoátegui, Venezuela. *Interciencia*, 27(4), 173-179.
- Monsalve, K., Torres, J., Ledo, H., Montilla, B. y Cano, Y. (2015). Distribución de V, Ca, P, Mn, Mg, Na, K, Fe y Al en un núcleo de sedimento del cono hipolimnético del lago de Maracaibo, Venezuela. *Investigaciones Clínicas*, 56(1), 626-630.

- Ntakirutimana, T., Du, G., Guo, J., Gao, X. y Huang, L. (2013) Contamination and potential ecological risk assessment of heavy metals in a lake. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(4), 1129-1134.
- Pugibet, E., Vega, M. y Gerales, F. (2006). Protocolo de monitoreo a largo plazo, Estuario Yuna- Barracote y Bahía de Samana, República Dominicana. *The Nature Conservancy*. Santo Domingo: Acuario Nacional.
- Rodríguez, G. (1973). *El Sistema de Maracaibo*. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas IVIC.
- Torres, J., Colina, M., Cano, Y., Montilla B. y Sánchez, O., (2010). Flujo de fósforo en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo (Venezuela). *Multiciencias*, 10, 49-54.
- Wang, Z., Yao, L., Liu, G. y Liu, W. (2014). Heavy metals in water, sediments and submerged macrophytes in ponds around the Dianchi Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 200-206.
- Yang, J., Chen, L., Liu, L., Shi, W. y Meng, Z. (2014). Comprehensive risk assessment of heavy metals in lake sediment from public parks in Shanghai. Elsevier. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102, 129-135.
- Zhang, H., Huo, S., Yeager, K., Xi, B., Zhang, J. y Wu, F. (2019). A Historical Sedimentary Record of Mercury in a Shallow Eutrophic Lake: Impacts of Human Activities and Climate Change. *Engineering*, 5, 296-304.

Influencia de la construcción del tranvía en las concentraciones de dióxido de nitrógeno en la ciudad de Cuenca, Ecuador

Fernando Pacheco

Laboratorio de Calidad de Aire y Ruido IDYC, Ecuador

Freddy Armijos-Arcos

Laboratorio de Calidad de Aire y Ruido IDYC, Ecuador

Rubén Jerves

Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Claudia Espinoza

Red de Monitoreo de Calidad del Aire EMOV-EP, Ecuador

Introducción

La calidad de aire en una ciudad de las características de Cuenca está estrechamente relacionada con diferentes factores como la distancia a las principales fuentes de emisión, el tipo de emisiones, el relieve y las condiciones atmosféricas (Jerves y Armijos, 2016). En el año 2007, se determinó que la principal fuente de contaminantes atmosféricos era el tráfico vehicular con un aporte del 85% de las emisiones totales (Palacios y Espinoza, 2014). En particular, los motores a diésel tienen un uso extenso en comparación con los motores a gasolina debido a sus bajos costos de operación, eficiencia energética, alta durabilidad y confiabilidad, lo que análogamente los convierte

en uno de los mayores responsables de la contaminación ambiental causada por las emisiones de escape a través de la liberación monóxido de carbono (CO), hidrocarburos (HC), óxidos de nitrógeno (NOx) y material particulado (PM) principalmente (Reşitoğlu *et al.*, 2015). Para determinar la concentración de estos contaminantes, especialmente NOx en el año 2008 la Municipalidad de Cuenca inició la vigilancia de la calidad de aire ambiente a partir de una red de monitoreo que actualmente contempla 20 puntos de muestreo por difusión pasiva (Jerves y Armijos, 2016; Sellers y Espinoza, 2017).

En este sentido, debido a que el NO₂ se considera un marcador de la contaminación del aire proveniente de la combustión vehicular (Rijnders *et al.*, 2001), particularmente por su tiempo de formación a partir del óxido de nitrógeno (NO) (Kimbrough *et al.*, 2017). Varios estudios han evaluado la relación entre la exposición al NO₂ y el tráfico automotor (intensidad y densidad vehicular) o la distancia a vías cercanas (Brugge *et al.*, 2007; Gilbert *et al.*, 2003; Henderson *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2004).

Por otro lado, en el año de 1999 la ciudad de Cuenca inició la transformación de la gestión de la movilidad, renovando el sistema de transporte público urbano de autobús a una flota vehicular con tecnología Euro 2, y que para el año de 2009 dio lugar al proyecto de movilidad denominado Plan de Transporte Masivo cuyo eje principal fue la implementación del tranvía Cuatro Ríos de Cuenca (Hermida, 2015). No obstante, las actividades de construcción del tranvía que iniciaron a finales de 2013 caotizaron la transitabilidad en varios sectores de la ciudad, como efecto del cierre vial, que a la vez desplazó la circulación vehicular regular a rutas alternas o paralelas a las vías intervenidas, con el consecuente aumento vehicular y el tiempo en la vía.

La presente investigación, compara las concentraciones de NO₂ medidas en las estaciones pasivas de calidad del aire, durante el periodo 2008-2013 y el año 2015. Las estaciones pasivas analizadas son aquellas ubicadas en las cercanías de las vías intervenidas

por el proceso constructivo del tranvía, así como las rutas alternas de desviación del tráfico vehicular por este proceso. El año 2015 fue analizado debido a que, en este año, las actividades de construcción alcanzaron un 66% de avance con varios frentes de intervención, y por ende se generó mayor impacto.

Materiales y métodos

El área de estudio comprende tanto las rutas del tranvía Cuatro Ríos de Cuenca y su área de influencia (figura 1), así como la cobertura de las nueve estaciones de la red de monitoreo seleccionadas. Las estaciones pasivas fueron agrupadas para su análisis considerando la influencia de la Av. De las Américas (tabla 1). El monitoreo en estas estaciones, se realiza a partir de métodos de difusión pasiva, los mismos que proveen información entre 10 a 12 días, lo que hace posible disponer de al menos dos registros por mes. Cada colector pasivo contiene trietanolamina ($C_6H_{15}NO_3$), sustrato químico que captura selectivamente las moléculas de NO_2 . El proceso de captación se efectúa con una incertidumbre global de hasta 20,3% a niveles de concentración entre 20 y 40 $\mu g/m^3$. En laboratorio se procede a la desorción del NO_2 y se determina la concentración media, a través de espectrofotometría UV visible (longitud de onda 540nm), mediante un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESIS 20, cuya precisión de longitud de onda es de ± 2 nm (EMOV-EP, 2015).

Si bien las actividades de construcción iniciaron el 18 de diciembre de 2013, entre el 14 de julio al 12 de diciembre de 2014, ocurrió una paralización en la intervención de los tramos ubicados en el Centro Histórico. Este evento, conjuntamente con el cambio de la administración municipal y la consecuente descoordinación en las actividades, la falta de seguimiento a los cronogramas, las paralizaciones imprevistas en los frentes de trabajo ya abiertos, entre otros (Cronograma de obras y costo de tranvía, a evaluación, 2014) no permitieron obtener una perspectiva real del estado de la intervención espacial y temporal de la construcción de la ruta tranviaria durante el año 2014.

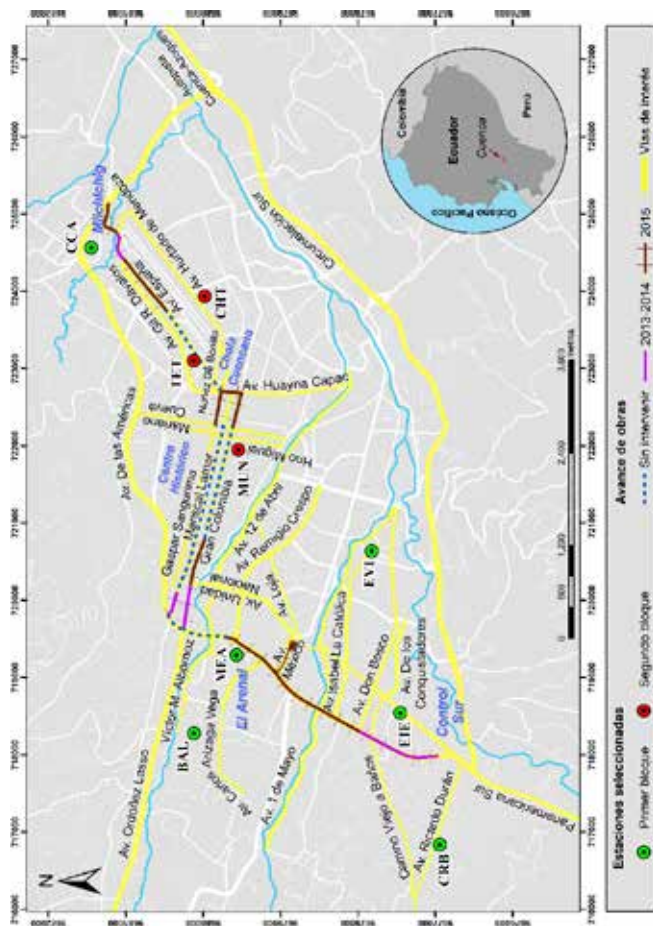
Debido a estas circunstancias, se tomó como referencia lo acontecido exclusivamente durante el año 2015; año en el cual se reporta el cierre parcial de la avenida de las Américas y avenida México, así como la mayor intervención hasta ese momento, que inició desde el mes de septiembre de ese mismo año (Fernández, 2016). La Figura 2 resume los principales eventos ocurridos en el periodo de evaluación (4 líneas de bus cambiarán de ruta, 2014; 1850 días desde el inicio del proyecto tranvía, 2018; Av. Unidad Nacional será intervenida por el tranvía, 2015; Castillo, 2014, 2015; Cierre en la Avenida de las Américas y Don Bosco, 2015; Comerciantes y gremio cuestionan los cierres de calles por el tranvía, 2015; El plan de mitigación de tránsito por tranvía avanza, 2014; En Cuenca se inician las obras civiles del tranvía, 2013; Las cuatro cosas que se deben conocer del tranvía Cuatro Ríos de Cuenca, 2014; Las obras del tranvía de Cuenca bajo la mirada de cuatro arqueólogos, 2015; Obras del tranvía en Av. Américas se intensifican, 2015; Ochoa, 2015; Pazán, 2018; Trabajos del tranvía hacen costosa pausa, 2015; Tranvía tendrá 7 meses contrarreloj; primer año avanzó 15% y en segundo el progreso llega al 60%, 2015; Tranvía: 1.400 días de una obra, sin fecha de entrega, 2017).

Tabla 1
Descripción general de las estaciones seleccionadas

Estación	Referencia	Escala	Bloque
EVI	Escuela Velazco Ibarra	Vecinal	Primer
CCA	Colegio Carlos Arízaga Vega	Vecinal-Urbana	
BAL	Universidad de Cuenca – Balzay CEA	Vecinal	
MEA	Mercado El Arenal	Vecinal	
CRB	Colegio Rafael Borja	Vecinal	
EIE	Escuela Ignacio Escandón	Vecinal-Urbana	
TET	Terminal Terrestre	Vecinal	Segundo
CHT	Colegio Herlinda Toral	Vecinal	
MUN	Municipio	Vecinal-Urbana	

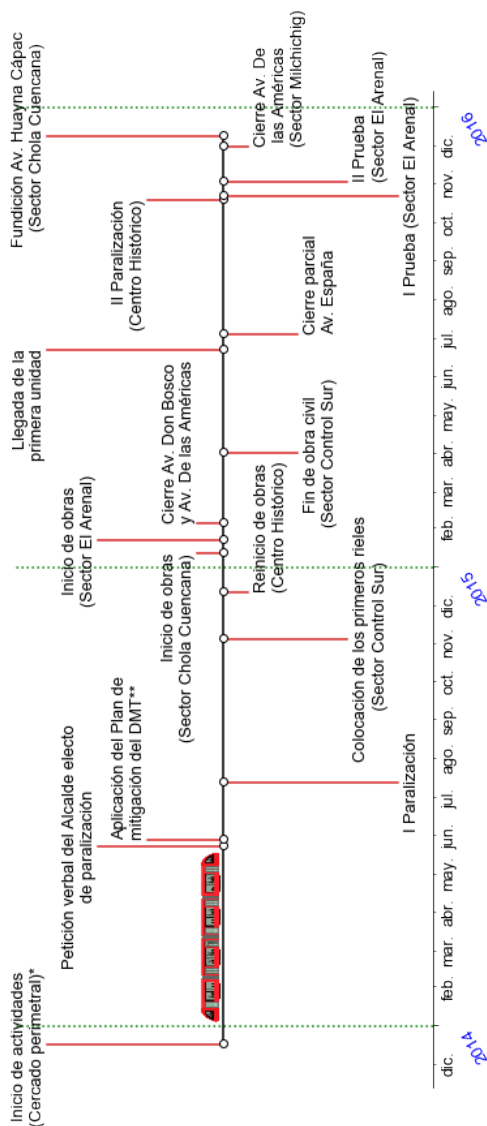
Fuente: IDYC

Figura 1
Mapa de ubicación de muestreadores pasivos y avance de obras



Fuente: IDYC

Figura 2
Principales eventos en la ejecución del tranvía



* Se abrieron 4 frentes (no existió cierre vial, sólo delimitación del espacio de acometidas): Av. De las Américas (desde Control Sur hasta Av. Don Bosco), Av. España (Sector Milichichig), Gran Colombia (desde Av. Unidad Nacional hasta Av. De las Américas), y Av. México (Patio Taller).

** Incluyó el desvío del tráfico pesado que ingresó por el sur con destino al norte por la circunvalación sur y la autopista Cuenca – Azogues.

Fuente: Consorcio ACTN, Expreso, Diano El Tiempo, El Mercurio, El Telégrafo, El Universo.

Fuente: IDYC

Análisis

Los registros anuales se ajustan a dos curvas de comportamiento: la primera es una serie temporal con valores medios mensuales del periodo 2008-2013 (histórico), con su respectivo rango de variación interanual, y la otra corresponde al promedio mensual del año 2015. A partir de este análisis se realiza la primera aproximación de contraste entre las concentraciones medias de NO₂ registradas en 2015, respecto a tendencia media de los datos históricos. De igual forma, se contrastó la normalidad de los datos mensuales históricos mediante el test de Shapiro-Wilk (Royston, 1983) y posteriormente se evaluó la homocedasticidad de cada par mensual (histórico versus 2015) con la prueba de Bartlett (Glass, 1966). Con ambos resultados disponibles, se determinó la significancia de las variaciones mensuales entre las dos series en mención, mediante la comparación de las distribuciones de ambos grupos a través del test t-Student (Sánchez Turcios, 2015), para los meses con una distribución normal y varianza homogénea. Los meses que no cumplen con estos supuestos (normalidad y homogeneidad de varianza), su significancia fue analizada con la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon (Siegel y Tukey, 1960).

El análisis de los resultados se efectuó por bloques. El primer bloque se enfocó a la evaluación de las concentraciones en las estaciones ubicadas sobre las rutas alternas y vías anexas al tramo intervenido en la avenida de las Américas. Mientras que el segundo bloque corresponde a las estaciones cercanas a los sectores en construcción ubicados en las calles Gran Colombia y Mariscal Lamar, y las avenidas Huayna Cápac y España.

Resultados

En el primer bloque analizado, las estaciones CRB y EIE (Figura 1) reportan un comportamiento medio mensual en el año 2015, superior a la media mensual histórica (*mmh*) (figuras A1A y A1B). En particular, las dos estaciones superan la variabilidad mensual

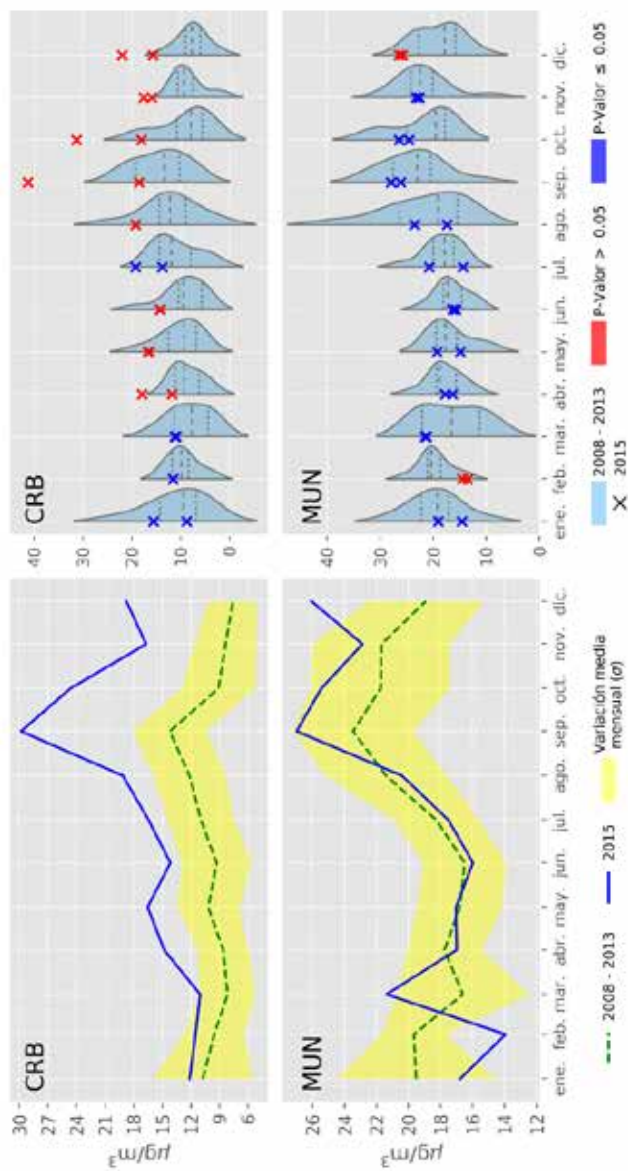
media histórica (*vmmh*) en más de 9 meses, siendo notable a partir de marzo, la diferencia entre los valores medios de las series. En las estaciones MEA, BAL y CCA (Figura 1) la situación es similar; en 11 meses los registros medios mensuales del 2015 se encuentran sobre la *mmh* (figuras A1C, A1D y A1E). Sin embargo, los registros medios mensuales del 2015 en las dos primeras estaciones, ubican a los periodos marzo, mayo-junio y septiembre-diciembre por encima de la *vmmh*; particular que no ocurre con la estación BAL donde los periodos con registros superiores a la *vmmh* se producen entre marzo-mayo y agosto-diciembre. Finalmente, la estación EVI (figura 1), a pesar de estar a 2.3 km de las zonas de intervención, tiene el mismo comportamiento (a excepción de febrero) que el registrado en las estaciones CRB e EIE (figura A1H).

Del análisis del segundo bloque, correspondiente a las estaciones MUN y TET (figura 1), se observa que la mayor parte del año sus comportamientos se ajustan a la *vmmh*, reportándose incluso valores medios mensuales del 2015 inferiores a la *mmh* (figuras A1F y A1I). En la estación CHT (figura 1) se verifica dos periodos (abril-julio y diciembre) que superan la *vmmh* (figura A1G). No obstante, se concluye que las concentraciones medias de las estaciones TET, CHT y MUN no presentan variaciones atípicas representativas que puedan ser axiomáticas en una primera instancia.

Por el contrario, los niveles de significancia de las variaciones mensuales obtenidas mediante el contraste de hipótesis entre ambas series, permiten distinguir aumentos significativos en las concentraciones de NO_2 , en casi todas las estaciones durante el mes de diciembre y en menor medida en noviembre.

En general, la estación CRB posee el máximo valor de la serie 2015 sobre la *vmmh* de todos meses en las estaciones evaluadas (aumenta hasta un 190,8% en septiembre); mientras que, la estación MUN contiene el mínimo valor por debajo de la *vmmh* (disminuye hasta un 64,4% en febrero) (figura 3).

Figura 3
Concentraciones de NO₂ en las estaciones CRB y MEA



Fuente: IDYC

Discusión

A priori, los registros históricos contrastados con la serie 2015, muestran una relación directamente proporcional entre la densidad vehicular con la variación de las concentraciones de NO₂ (ver la figura A1). Concentraciones que se explican por la cercanía de las estaciones seleccionadas a las rutas alternas y paralelas a la intervención tranviaria. Esto concuerda con lo reportado por Zhou y Levy (2007), quienes realizaron una profunda revisión de estudios concernientes a la extensión espacial de los impactos del tráfico y la distribución espacial de las concentraciones de NO₂, la misma que generalmente ocurre entre los 200-500 metros de la fuente.

El incremento de las concentraciones medias de NO₂ durante 2015 en las estaciones CRB, EIE, MEA y CCA se explica por el inicio de los trabajos en el sector Centro Sur y la cercanía tanto entre estaciones como en referencia a la Av. De las Américas. Por otro lado, el comportamiento en la estación BAL puede responder además de los eventos relacionados con la construcción del tranvía, a los efectos de la intervención de la avenida Ordóñez Lasso, vía que en ese mismo año entró en proceso de reconstrucción. Por último, el aumento de las concentraciones medias en la estación EVI, se atribuye a las avenidas Primero de Mayo e Isabel la Católica, las mismas que fueron las principales rutas de descarga de tráfico generado por las actividades en la Av. De las Américas (sector centro sur).

Las concentraciones medias de las estaciones TET, CHT y MUN no presentaron fluctuaciones que puedan ser atribuibles directamente a los efectos de la construcción tranviaria. Esto se debe probablemente a que las actividades en relación a la construcción de la obra fueron mínimas en las zonas donde se localizan las estaciones en mención, debido a que el tráfico habitual interrumpido en la avenida España se trasladó a la avenida Gil Ramírez Dávalos (vía paralela a la anterior); de manera similar a lo ocurrido en las vías anexas del Centro Histórico. De acuerdo con Montesdeoca y Vásquez (2015), quienes contrastaron el statu quo ante de la densidad

e intensidad vehicular con una simulación del funcionamiento del tranvía en varias intersecciones de la ciudad; se prevé un aumento de los niveles de servicio (NS) por la operación del tranvía alcanzando un valor de F (caracterizado por flujos forzados o en colapso) en las intersecciones cercanas a la Av. España, Av. Huayna Cápac, Mariscal Lamar, Gran Colombia, Av. De las Américas, Av. México y Av. Don Bosco (figura 1). Esto se produciría esencialmente porque las demoras (definidas como la medida de molestia, frustración, consumo de combustible y tiempo perdido durante el viaje) en cada intersección se agudizarán. A partir de esto, se podría asumir la existencia de un patrón de NS análogo para la etapa de construcción tranviaria durante el año 2015 en las mismas intersecciones. En virtud de lo anterior, la presencia de valores significativos ($p\text{-valor} > 0,05$) en las series del 2015 con respecto a las series históricas (figura A2) sugiere la ocurrencia de congestiones vehiculares con una mayor frecuencia; ocasionando una prolongada duración y temporalmente atípicas (fuera de horas pico) alrededor de la zona de influencia de todas estaciones evaluadas. De manera puntual, el aumento significativo en las concentraciones de NO₂ en casi todas las estaciones durante el último bimestre del año, estaría ligado directamente a la contribución vehicular adicional que se generó por la época navideña y las fiestas de la ciudad de Cuenca.

Los aumentos significativos en otros meses en las diferentes estaciones obedecerían a eventos puntuales adicionales, pero inherentes a los efectos de la construcción tranviaria, aspectos que no son fáciles de evidenciar. Por ejemplo, en la estación MEA (Figura A2C) durante el mes de octubre se ejecutaron los primeros recorridos de prueba del tranvía en el sector El Arenal, de los cuales se derivó la obvia reprogramación de rutas de transporte público, así como el cierre provisional de las vías contiguas y el aumento del tiempo en la vía. De manera similar, lo ocurrido en las estaciones CRB y EIE (figuras A2A y A2B), donde la aplicación del plan de mitigación de impactos de la Dirección Municipal de Tránsito (DMT) del Municipio de Cuenca, incluyó el desvío del tráfico pesado que ingresaba por el sur de la

ciudad hacia la circunvalación sur (sector centro sur) y la autopista Cuenca-Azogues. Al contrario, en la estación MUN que se ubica en el centro histórico (figura A2F), en donde las concentraciones fueron significativamente menores en el mes de febrero; probablemente este efecto se podría atribuir al cierre de las vías contiguas a la Gran Colombia y Mariscal Lamar, así como a la habilitación provisional y cambio de sentido de circulación de otras vías, aspecto que se dio por la oposición de los frentistas. Por otro lado, también se presenta la probabilidad de que estas variaciones significativas obedezcan a eventos puntuales no asociables a los efectos del tranvía, aspectos que requerirían un análisis minucioso de planillas, cronogramas y levantamiento de información digital y de campo, cuya recopilación y evaluación no está en el alcance de este estudio.

Finalmente, desde su concepción el proyecto tranvía Cuatro Ríos de Cuenca, ha sido un emprendimiento debatible y complejo. Por un lado se presenta el plan de movilidad y espacios públicos (PMEP) que incluye al tranvía en un sistema de movilidad integral social y ambientalmente sostenible (GAD Municipal de Cuenca, 2015), y por otro, se exhibe los futuros posibles problemas de congestionamiento vehicular en el centro histórico, aspecto que no sólo es atribuible al tranvía sino también a las medidas establecidas en el PMEP para el Centro Histórico (López y Vásquez, 2017), así como el posible deterioro en los NS en varias intersecciones de la ruta tranviaria (Montesdeoca y Váscquez, 2015). Con estas perspectivas, directamente relacionadas con las concentraciones de NO₂, es incierto el futuro comportamiento de este contaminante, pudiendo o no retornar a su comportamiento previo a la construcción tranviaria, una vez que: este nuevo servicio de movilidad alcance el ritmo de operación esperado, se reestructuren varias rutas de transporte público, así como se defina la salida de circulación de varias unidades y se ejecute las medidas adicionales del PMEP. Para la determinación del futuro comportamiento del NO₂ se debería realizar una evaluación posterior, con la información recolectada de la red pasiva de calidad del aire de Cuenca. Esta evaluación es recomendable que se efectué durante el segundo año de operaciones del tranvía.

Conclusiones

1. La red pasiva a pesar de no entregar registros continuos y de alto nivel de detalle, resulta importante para el seguimiento histórico de la calidad del aire en la ciudad de Cuenca, permitiendo medir el impacto ambiental de eventos de interés local.
2. Las oscilaciones en el comportamiento de las concentraciones de NO_2 durante el año 2015 en varias estaciones de monitoreo, es vinculable a los efectos de la construcción del tranvía y las implicaciones ocasionadas por el desvío del tráfico vehicular.
3. Para evaluar el impacto futuro real del tranvía en las concentraciones de NO_2 se recomienda ejecutar un análisis similar al de este estudio, el mismo que se debería efectuar durante el segundo año de operaciones de este medio de movilidad urbana.

Agradecimientos

Un agradecimiento muy especial al ingeniero Gerald Fernández, director de la Unidad Ejecutora del Tranvía (2013-2016) por proporcionar toda la información y pormenores del avance del proyecto Cuatro Ríos de Cuenca.

Bibliografía

- 4 líneas de bus cambiarán de ruta. (2014). *El Mercurio*. Recuperado de https://issuu.com/elmercuriocuenca/docs/hemeroteca_27-05-2014/8
- 1850 días desde el inicio del proyecto tranvía. (2018). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/tranvia-cuenca-obras-ecuador>
- Av. Unidad Nacional será intervenida por el tranvía. (2015). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/av-unidad-nacional-sera-intervenida-por-el-tranvia>
- Brugge, D., Durant, J. L., y Rioux, C. (2007). Near-highway pollutants in motor vehicle exhaust: a review of epidemiologic evidence of cardiac and pulmonary health risks. *Environ Health*, 6, 23. doi:10.1186/1476-069X-6-23.

- Castillo, L. (2014). En Cuenca se colocan los primeros rieles del Tranvía. *El Comercio*. Recuperado de <https://web.archive.org/web/20180706080929/https://www.elcomercio.com/actualidad/cuenca-tranvia-obras-rieles-avances.html>
- Castillo, L. (2015). Cuenca aplica un plan de movilidad y contingencia por las obras del tranvía. *El Comercio*. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/cuenca-plan-movilidad-construccion-tranvia.html>
- Cierre en la Avenida de las Américas y Don Bosco. (2015). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/cierre-en-la-avenida-de-las-americas-y-don-bosco>
- Comerciantes y gremio cuestionan los cierres de calles por el tranvía. (2015). *El Telégrafo*.
- Cronograma de obras y costo de tranvía, a evaluación. (2014). *El Telégrafo*. Recuperado de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/cronograma-de-obras-y-costo-de-tranvia-a-evaluacion>
- El plan de mitigación de tránsito por tranvía avanza. (2014). *El Telégrafo*. Recuperado de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/el-plan-de-mitigacion-de-transito-por-tranvia-avanza>
- EMOV-EP. (2015). *Informe de la Calidad del Aire de Cuenca*. Cuenca Retrieved from http://www.emov.gob.ec/sites/default/files/Calidad%20del%20Aire%20final%202015_0.pdf
- En Cuenca se inician las obras civiles del tranvía. (2013). *Expreso*. Recuperado de https://www.expreso.ec/actualidad/en-cuenca-se-inician-las-obras-civiles-del-tr-FAGR_5412589
- Fernández, G. (2016) *Avance y detalles de la construcción del tranvía/Entrevistador: F. Pacheco*. Cuenca.
- GAD Municipal de Cuenca. (2015). *Plan de Movilidad y Espacios Públicos Cuenca*. Recuperado de http://www.cuenca.gob.ec/?q=system/files/PMEPCUENCA2015_tomo_II.pdf
- Gilbert, N. L., Woodhouse, S., Stieb, D. M., y Brook, J. R. (2003). Ambient nitrogen dioxide and distance from a major highway. *Science of The Total Environment*, 312(1), 43-46. doi:[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00228-6](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00228-6).
- Glass, G. V. (1966). Testing Homogeneity of Variances. *American Educational Research Journal*, 3(3), 187-190. doi:10.3102/00028312003003187.
- Henderson, S. B., Beckerman, B., Jerrett, M., y Brauer, M. (2007). Application of Land Use Regression to Estimate Long-Term Concentrations of Traffic-Related Nitrogen Oxides and Fine Particulate Matter. *Environmental Science & Technology*, 41(7), 2422-2428. doi:10.1021/es0606780.

- Hermida, C. (2015). Reflexiones sobre la planificación y gestión municipal del transporte público en Cuenca. *IERSE* 30(66), 180-202.
- Jerves, R., y Armijos-Arcos, F. (2016). Análisis y revisión de la red de monitoreo de calidad del aire de la ciudad de Cuenca - Ecuador. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 23(1), 25-34. doi:<https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.03>.
- Kim, J. J., Smorodinsky, S., Lipsett, M., Singer, B. C., Hodgson, A. T., y Ostro, B. (2004). Traffic-related air pollution near busy roads: the East Bay Children's Respiratory Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*, 170(5), 520-526. doi:10.1164/rccm.200403-281OC.
- Kimbrough, S., Owen, R. C., Snyder, M., y Richmond-Bryant, J. (2017). NO to NO₂ Conversion Rate Analysis and Implications for Dispersion Model Chemistry Methods using Las Vegas, Nevada Near-Road Field Measurements. *Atmos Environ* (1994), 165, 23-24.
- Las cuatro cosas que se deben conocer del tranvía Cuatro Ríos de Cuenca. (2014). *El Comercio*. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/cuatro-cosas-deben-conocer-tranvia.html>
- Las obras del tranvía de Cuenca bajo la mirada de cuatro arqueólogos. (2015). *El Comercio*. Recuperado de <https://www.elcomercio.com/actualidad/obras-tranvia-cuenca-mirada-arqueologos.html>
- López, L., y Vásquez, M. (2017). *Evaluación de acciones encaminadas a la aplicación del plan de movilidad y espacios públicos de Cuenca en el Centro Histórico, mediante un modelo calibrado de movilidad vehicular*. (Ingeniería Civil Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Cuenca. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/28586>
- Montesdeoca, R., y Vásquez, E. (2015). *Análisis de los niveles de servicio mediante la implementación del tranvía en la ciudad de Cuenca*. (Mecánica Automotriz Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca. Recuperado de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7642>
- Obras del tranvía en Av. Américas se intensifican. (2015). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/obras-del-tranvia-en-av-americas-se-intensifican>
- Ochoa, S. (2015, 2015/12/19). Tranvía de Cuenca, entre retrasos y el malestar de comerciantes. *El Universo*. Recuperado de <https://www.eluniverso.com/noticias/2015/12/19/nota/5304870/tranvia-retrasos-malestar-comerciantes>
- Palacios, E., y Espinoza, C. (2014). Contaminación del aire exterior Cuenca - Ecuador, 2009 - 2013. Posibles efectos en la salud. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca*, 32(2), 6-17.

- Pazán, C. (2018). Un tranvía y el cambio de Cuenca. *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/medios/especiales/2018/tranvia-cuenca/linea-de-tiempo.html>
- Reşitoğlu, İ. A., Altinişik, K., y Keskin, A. (2015). The pollutant emissions from diesel-engine vehicles and exhaust aftertreatment systems. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 17(1), 15-27. doi:10.1007/s10098-014-0793-9.
- Rijnders, E., Janssen, N. A., van Vliet, P. H., y Brunekreef, B. (2001). Personal and outdoor nitrogen dioxide concentrations in relation to degree of urbanization and traffic density. *Environmental Health Perspectives*, 109(suppl 3), 411-417. doi:10.1289/ehp.01109s3411.
- Royston, J. P. (1983). A Simple Method for Evaluating the Shapiro-Francia W' Test of Non-Normality. *Journal of the Royal Statistical Society: Series D (The Statistician)*, 32(3), 297-300. doi:10.2307/2987935.
- Sánchez Turcios, R. A. (2015). t-Student: Usos y abusos. *Revista mexicana de cardiología*, 26, 59-61.
- Sellers, C., y Espinoza, C. (2017). Publicación de contaminantes atmosféricos de la estación de monitoreo de la ciudad de Cuenca, utilizando servicios estándares OGC. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 9(15). doi:http://dx.doi.org/10.18272/aci.v9i15.300.
- Siegel, S., y Tukey, J. W. (1960). A Nonparametric Sum of Ranks Procedure for Relative Spread in Unpaired Samples. *Journal of the American Statistical Association*, 55(291), 429-445. doi:10.1080/01621459.1960.10482073.
- Trabajos del tranvía hacen costosa pausa. (2015). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/trabajos-del-tranvia-hacen-costosa-pausa>
- Tranvía tendrá 7 meses contrarreloj; primer año avanzó 15% y en segundo el progreso llega al 60%. (2015). *El Mercurio*. Recuperado de <https://web.archive.org/web/20160121055917/http://www.elmercurio.com.ec/507765-tranvia-60-de-ejecucion-en-24-meses-de-intervencion/>
- Tranvía: 1.400 días de una obra, sin fecha de entrega. (2017). *El Tiempo*. Recuperado de <https://www.eltiempo.com.ec/noticias/cuenca/2/tranvia-1-400-dias-de-una-obra-sin-fecha-de-entrega-2017>
- Zhou, Y., y Levy, J. I. (2007). Factors influencing the spatial extent of mobile source air pollution impacts: a meta-analysis. *BMC Public Health*, 7(1), 89. doi:10.1186/1471-2458-7-89.

Anexos

Figura A1
Concentraciones medias de NO_2 en las estaciones seleccionadas

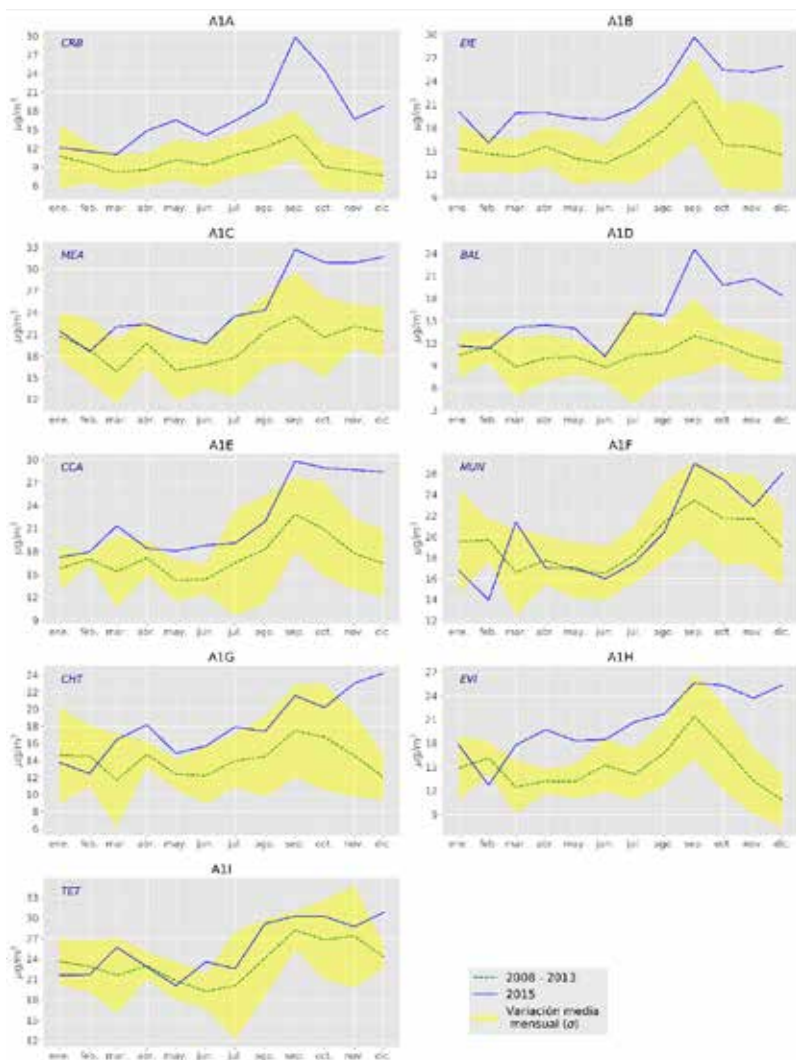


Figura A2
Distribuciones de las concentraciones de NO_2
en las estaciones seleccionadas

